

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-507816

(P2023-507816A)

(43)公表日 令和5年2月27日(2023.2.27)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 4
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 6
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 K 31/506 (2006.01)	A 6 1 K 31/506	
A 6 1 K 31/404 (2006.01)	A 6 1 K 31/404	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全64頁) 最終頁に続く		

(21)出願番号	特願2022-538286(P2022-538286)	(71)出願人	522244676
(86)(22)出願日	令和2年12月16日(2020.12.16)		エンジン バイオサイエンス プライベ
(85)翻訳文提出日	令和4年8月17日(2022.8.17)		ート リミテッド
(86)国際出願番号	PCT/US2020/065335		シンガポール共和国, シンガポール 0
(87)国際公開番号	WO2021/126995		6 8 9 1 4 ロビンソン ロード 1 6 0
(87)国際公開日	令和3年6月24日(2021.6.24)		エスビーエフ センター 2 3 - 0 2
(31)優先権主張番号	62/951,479	(71)出願人	591177277
(32)優先日	令和1年12月20日(2019.12.20)		マサチューセッツ インステテュート オ
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		ブ テクノロジー
(31)優先権主張番号	63/114,930		MASSACHUSETTS INST
(32)優先日	令和2年11月17日(2020.11.17)		ITUTE OF TECHNOLOGY
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA	(74)代理人	100079108
最終頁に続く		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 がんを治療するための方法及び組成物

(57)【要約】

本開示は、がん治療における致死遺伝子対標的を、それらの発現及び活性を制御するための方法及び組成物とともに提供する。本明細書で開示される遺伝子対は、チロシンキナーゼ遺伝子（例えば、SRC、RON、及びYES）を含む。さらに、RONに特異的なピラゾールベンズアミド阻害剤を含む、チロシンキナーゼ活性を制御するための方法及び組成物、並びに遺伝子制御のための方法が提供される。

【選択図】 図 1 3

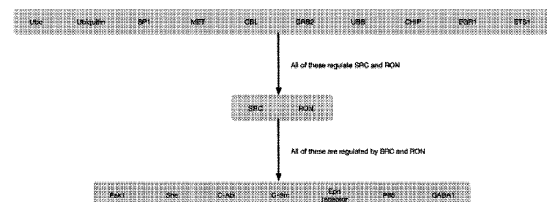


FIG. 13

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

がんを有するか又は有することが疑われる対象を治療するための方法であって、表 1 から選択される 1 つ以上の遺伝子対の両方のメンバーの発現又は活性の低減を引き起こす 1 つ以上の薬剤を治療有効量で前記対象に投与することを含む方法。

【請求項 2】

前記 1 つ以上の薬剤が、小分子、タンパク質、ペプチド、リボ核酸 (RNA) 分子に加え、エンドヌクレアーゼ複合体及びデオキシリボ核酸 (DNA) 構築物からなる群から選択される 1 つ以上のメンバーを含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記 DNA 構築物は、エンドヌクレアーゼ遺伝子を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記エンドヌクレアーゼ遺伝子は、CRISPR 関連 (Cas) タンパク質をコードする、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記 Cas は、Cas 9 である、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記 DNA 構築物は、前記 1 つ以上の遺伝子対の遺伝子に導かれるガイド RNA を含む、請求項 4 又は 5 に記載の方法。

【請求項 7】

前記エンドヌクレアーゼ複合体は、エンドヌクレアーゼを含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 8】

前記エンドヌクレアーゼは、CRISPR 関連 (Cas) タンパク質である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記小分子は、Src 阻害剤を含む、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 10】

前記 Src 阻害剤は、N- (2-クロロ-6-メチルフェニル)-2- [[6- [4- (2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジニル]-2-メチル-4-ピリミジニル] アミノ]-5-チアゾールカルボキサミド水和物 (ダサチニブ)、N- (5-クロロ-1, 3-ベンゾジオキソール-4-イル)-7- (2- (4-メチルピペラジニル-1-イル) エトキシ)-5- (テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イルオキシ) キナゾリン-4-アミン (サラカチニブ)、4- [(2, 4-ジクロロ-5-メトキシフェニル) アミノ]-6-メトキシ-7- [3- (4-メチルピペラジニル-1-イル) プロポキシ] キノリン-3-カルボニトリル (ボスチニブ)、(4-アミノ-5- (4-メチルフェニル)-7- (t-ブチル) ピラゾロ [3, 4-d]-ピリミジン)、(4-クロロフェニル)-7- (t-ブチル) ピラゾロ [3, 4-d]-ピリミジン (PP1)、1-tert-ブチル-3- (4-クロロフェニル) ピラゾロ [3, 4-d] ピリミジン-4-アミン (PP2)、6- (2, 6-ジクロロフェニル)-2- { [3- (ヒドロキシメチル) フェニル] アミノ}-8-メチル-7H, 8H-ピリド [2, 3-d] ピリミジン-7-オン (PD1663266)、(E)-N- [4- [3-クロロ-4- (ピリジン-2-イルメトキシ) アニリノ]-3-シアノ-7-エトキシキノリン-6-イル]-4- (ジメチルアミノ) but-2-エナミド (ネラチニブ)、3- (2-イミダゾ [1, 2-b] ピリダジン-3-イルエチニル)-4-メチル-N- [4- [(4-メチルピペラジニル-1-イル) メチル]-3- (トリフルオロメチル) フェニル] ベンズアミド (ボナチニブ)、(E)-N- [4- (3-クロロ-4-フルオロアニリノ)-3-シアノ-7-エトキシキノリン-6-イル]-4- (ジメチルアミノ) but-2-エナミド (ペリチニブ)、N-ベンジル-2- [5- [4- (2-モルホリン-4-イルエトキシ) フェニル] ピリジン-2-イル] アセトアミド (チルバニブリン)、4-メチル-3- [(2-メチル-6

10

20

30

40

50

ーピリジン-3-イルピラゾロ [3, 4-d] ピリミジン-4-イル) アミノ] -N- [3- (トリフルオロメチル) フェニル] ベンズアミド (NVP-BHG712)、(2S, 3S)-2, 3-ジヒドロキシブタン二酸; 6- (4-メチルピペラジン-1-イル) -N- (5-メチル-1H-ピラゾール-3-イル) -2- [(E) -2-フェニルエテン] ピリミジン-4-アミン (ENMD-2076)、4- [4- [(5-tert-ブチル-2-キノリン-6-イルピラゾール-3-イル) カルバモイルアミノ] -3-フルオロフェノキシ] -N-メチルピリジン-2-カルボキサミド (レバステニブ)、又はそれらの任意の組み合わせを含む、請求項9に記載の方法。

【請求項11】

前記Src阻害剤は、N- (2-クロロ-6-メチルフェニル) -2- [[6- [4- (2-ヒドロキシエチル) -1-ピペラジニル] -2-メチル-4-ピリミジニル] アミノ] -5-チアゾールカルボキサミド-水和物 (ダサチニブ) を含む、請求項9に記載の方法。

10

【請求項12】

前記Src阻害剤は、二次標的を含み、前記Src阻害剤のIC₅₀は、前記二次標的について少なくとも100ナノモル (nM) である、請求項9~11のいずれか一項に記載の方法。

【請求項13】

前記二次標的についての前記IC₅₀は、少なくとも1マイクロモル (μM) である、請求項12に記載の方法。

20

【請求項14】

前記小分子は、Yes阻害剤を含む、請求項2に記載の方法。

【請求項15】

前記Yes阻害剤は、(3Z)-N, N-ジメチル-2-オキソ-3- (4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-1H-インドール-2-イルメチリデン) -2, 3-ジヒドロ-1H-インドール-5-スルホンアミド (SU-6656) を含む、請求項14に記載の方法。

【請求項16】

前記小分子は、Ron阻害剤を含む、請求項2に記載の方法。

【請求項17】

前記Ron阻害剤は、N- [4- [(2-アミノ-3-クロロ-4-ピリジニル) オキシ] -3-フルオロフェニル] -4-エトキシ-1- (4-フルオロフェニル) -2-オキソ-3-ピリジニルカルボキサミド (BMS77607)、N- (3-フルオロ-4- ((2- (1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル) チアゾロ [5, 4-d] ピリミジン-7-イル) オキシ) フェニル) -1-フェニル-5- (トリフルオロメチル) -1H-ピラゾール-4-カルボキサミド (ENG-009、図20)、N- (3-フルオロ-4- ((7- (1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル) -1, 6-ナフチリジン-4-イル) オキシ) フェニル) -1-フェニル-5- (トリフルオロメチル) -1H-ピラゾール-4-カルボキサミド (ENG-015、図20)、N- (3-フルオロ-4- ((6- (1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル) -1H-インダゾール-3-イル) オキシ) フェニル) -1-フェニル-5- (トリフルオロメチル) -1H-ピラゾール-4-カルボキサミド (ENG-018、図20)、N- (3-フルオロ-4- ((2- (1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル) チアゾロ [4, 5-b] ピリジン-7-イル) オキシ) フェニル) -1-フェニル-5- (トリフルオロメチル) -1H-ピラゾール-4-カルボキサミド (ENG-035、図20)、N- (3-フルオロ-4- ((2- (1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル) チエノ [3, 2-b] ピリジン-7-イル) オキシ) フェニル) -1-フェニル-5- (トリフルオロメチル) -1H-ピラゾール-4-カルボキサミド (ENG-006、図21)、N^{1'}- [3-フルオロ-4- [[6-メトキシ-7- [3- (4-モルホリニル) プロボキシ] -4-キノリニル] オキシ] フェニル] -N¹- (4-フルオロフェニル) シクロプロパン-1, 1-ジカ

30

40

50

ルボキサミド（フォレチニブ）、1-（2-（2，6-ジフルオロフェニル）-4-オキソチアゾリジン-3-イル）-3-（4-（（7-（3-（4-エチルピペラジン-1-イル）プロボキシ）-6-メトキシキノリン-4-イル）オキシ）-3，5-ジフルオロフェニル）尿素（ENG-013、図210、N-[4-[(2-アミノ-3-クロロ-4-ピリジニル)オキシ]-3-フルオロフェニル]-4-エトキシ-1-（4-フルオロフェニル）-2-オキソ-3-ピリジンカルボキサミド（ENG-007、図21）、又はそれらの任意の組み合わせを含む、請求項16に記載の方法。

【請求項18】

前記Ron阻害剤は、N-[4-[(2-アミノ-3-クロロ-4-ピリジニル)オキシ]-3-フルオロフェニル]-4-エトキシ-1-（4-フルオロフェニル）-2-オキソ-3-ピリジンカルボキサミド（BMS777607）又はN1'-[3-フルオロ-4-[[6-メトキシ-7-（3-モルホリノプロボキシ）-4-キノリル]オキシ]フェニル]-N1-（4-フルオロフェニル）シクロプロパン-1，1-ジカルボキサミド（フォレチニブ）を含む、請求項17に記載の方法。

10

【請求項19】

前記Ron阻害剤は、最大で1マイクロモル（ μM ）のRon IC₅₀を含む、請求項16～18のいずれか一項に記載の方法。

【請求項20】

前記Ron阻害剤のcMet IC₅₀は、前記Ron阻害剤のRon IC₅₀よりも少なくとも50倍高い、請求項16～19のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項21】

前記Ron IC₅₀は、sfRon IC₅₀である、請求項19又は20に記載の方法。

【請求項22】

前記がんは、乳がんである、請求項1に記載の方法。

【請求項23】

前記がんは、Src及びRon発現レベルの増加を含む、請求項1又は22に記載の方法。

【請求項24】

前記遺伝子対は、Ron及びSrcを含む、請求項1に記載の方法。

30

【請求項25】

前記Srcは、構成的に活性なSrcを含む、請求項24に記載の方法。

【請求項26】

前記Ronは、sfRonを含む、請求項24又は25に記載の方法。

【請求項27】

前記乳がんは、トリプルネガティブ乳がんである、請求項22～26のいずれか一項に記載の方法。

【請求項28】

がんを有するか又は有することが疑われる対象を治療するための組成物であって、表1から選択される1つ以上の遺伝子対の発現又は活性の低減を引き起こすのに有効な量で存在する少なくとも1つの薬剤を含む製剤を含む組成物。

40

【請求項29】

前記少なくとも1つの薬剤は、小分子、タンパク質、ペプチド、リボ核酸（RNA）分子に加え、エンドヌクレアーゼ複合体及びデオキシリボ核酸（DNA）構築物からなる群から選択される1つ以上のメンバーを含む、請求項28に記載の組成物。

【請求項30】

前記DNA構築物は、エンドヌクレアーゼ遺伝子を含む、請求項29に記載の組成物。

【請求項31】

前記エンドヌクレアーゼ遺伝子は、CRISPR関連（Cas）タンパク質をコードする、請求項30に記載の組成物。

50

【請求項 32】

前記 Cas は、Cas9 である、請求項 31 に記載の組成物。

【請求項 33】

前記 DNA 構築物は、前記 1 つ以上の遺伝子対の遺伝子に導かれるガイド RNA を含む、請求項 29 に記載の組成物。

【請求項 34】

前記エンドヌクレアーゼ複合体は、エンドヌクレアーゼを含む、請求項 29 に記載の組成物。

【請求項 35】

前記エンドヌクレアーゼは、CRISPR 関連 (Cas) タンパク質である、請求項 33 に記載の組成物。

10

【請求項 36】

前記小分子は、SRC 阻害剤を含む、請求項 29 に記載の組成物。

【請求項 37】

前記 SRC 阻害剤は、N- (2-クロロ-6-メチルフェニル)-2- [[6- [4- (2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジニル]-2-メチル-4-ピリミジニル] アミノ]-5-チアゾールカルボキサミド水和物 (ダサチニブ) を含む、請求項 36 に記載の組成物。

【請求項 38】

前記小分子は、Yes 阻害剤を含む、請求項 29 に記載の組成物。

20

【請求項 39】

前記 Yes 阻害剤は、(3Z)-N, N-ジメチル-2-オキソ-3- (4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-1H-インドール-2-イルメチリデン)-2, 3-ジヒドロ-1H-インドール-5-スルホンアミド (SU-6656) を含む、請求項 38 に記載の組成物。

【請求項 40】

前記小分子は、Ron 阻害剤を含む、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 41】

前記 Ron 阻害剤は、N- [4- [(2-アミノ-3-クロロ-4-ピリジニル) オキシ]-3-フルオロフェニル]-4-エトキシ-1- (4-フルオロフェニル)-2-オキソ-3-ピリジンカルボキサミド (BMS777607) 又は N1'- [3-フルオロ-4- [[6-メトキシ-7- (3-モルホリノプロポキシ)-4-キノリル] オキシ]フェニル]-N1- (4-フルオロフェニル) シクロプロパン-1, 1-ジカルボキサミド (フォレチニブ) を含む、請求項 40 に記載の方法。

30

【請求項 42】

前記がんは、乳がんである、請求項 28 に記載の組成物。

【請求項 43】

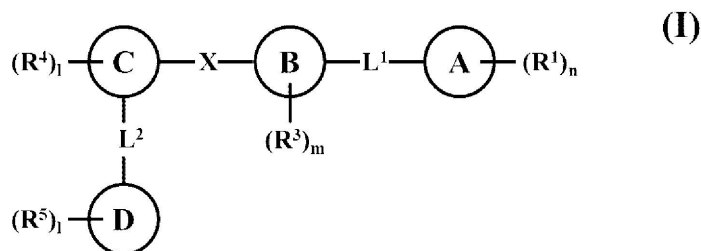
前記乳がんは、トリプルネガティブ乳がんである、請求項 42 に記載の組成物。

【請求項 44】

式 (I) の化合物、又はその薬学的に許容できる塩、溶媒和化合物、互変異性体、若しくは N-オキシド：

40

【化 1】



10

(式中、

環 A は、ヘテロシクロアルキル、アリール、又は単環ヘテロアリールであり；

L¹ は、結合、 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NR}^2-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{S}-$ 、 $-\text{NR}^2-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{S}-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^2-\text{C}(=\text{O})-\text{NR}^2-$ 、 $-\text{NR}^2-\text{C}(=\text{S})-\text{NR}^2-$ 、 $-\text{NR}^2-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-$ 、 $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-$ 、 $-\text{NR}^2-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、又は $-\text{S}(=\text{O})_2-$ であり；

環 B は、アリール又はヘテロアリールであり；

X は、結合、 $-\text{NR}^2-$ 、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-\text{S}(=\text{O})_2-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{NR}^2-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{S}-$ 、 $-\text{NR}^2-\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{O}-\text{C}(=\text{O})-$ 、又は $-\text{S}-\text{C}(=\text{O})-$ であり；

20

環 C は、5員ヘテロ芳香族、二環融合芳香族、又は二環融合ヘテロ芳香族であり；

L² は、結合、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{NR}^2-$ 、 $-\text{S}-$ 、又は $-\text{S}(=\text{O})_2-$ 、又は代替的には、L² は、不在であり、環 C は、環 D と融合され；

環 D は、アリール、ヘテロアリール、C₃-C₆シクロアルキル、又はC₂-C₅ヘテロシクロアルキルであり；

R¹の各例は、独立して、任意選択的には置換アリール、任意選択的には置換ヘテロアリール、ハロゲン、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NR}^6\text{R}^7$ 、ヒドロキシル、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^8$ 、C₁-C₄アルキル、C₁-C₄アルコキシ、C₁-C₄ハロアルキル、C₁-C₄ヘテロアルキレン、及びC₁-C₄ハロアルコキシからなる群から選択され；

30

R²の各例は、独立して、水素、C₁-C₄アルキル、C₁-C₄ヒドロキシアルキル、C₁-C₄ヘテロアルキレン、及びC₁-C₄ハロアルキルからなる群から選択され；

R³の各例は、独立して、ハロゲン、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NR}^6\text{R}^7$ 、ヒドロキシル、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^8$ 、C₁-C₄アルキル、C₁-C₄アルコキシ、C₁-C₄ヘテロアルキレン、C₁-C₄ハロアルキル、及びC₁-C₄ハロアルコキシからなる群から選択され；

R⁴の各例は、独立して、任意選択的には置換アリール、任意選択的には置換ヘテロアリール、任意選択的には置換C₃-C₆シクロアルキル、任意選択的には置換C₂-C₅ヘテロシクロアルキル、ハロゲン、 $-\text{NR}^6\text{R}^7$ 、ヒドロキシル、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^8$ 、C₁-C₄アルキル、C₁-C₄アルコキシ、C₁-C₄ハロアルキル、C₁-C₄ヘテロアルキレン、及びC₁-C₄ハロアルコキシからなる群から選択され、又は2つのR⁴は、一緒になって、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、又はヘテロアリールを形成し；

40

R⁵の各例は、独立して、ハロゲン、 $-\text{NR}^6\text{R}^7$ 、ヒドロキシル、 $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}^8$ 、C₁-C₄アルキル、C₁-C₄ヒドロキシアルキル、C₁-C₄ヘテロアルキレン、C₁-C₄アルコキシ、C₁-C₄ハロアルキル、及びC₁-C₄ハロアルコキシからなる群から選択され；

R⁶及びR⁷の各例は、独立して、水素、C₁-C₄アルキル、C₁-C₄ハロアルキル、及びC₁-C₄ヒドロキシアルキルからなる群から選択され、又はR⁶及びR⁷は、それらの結合対象の窒素原子と一緒に、任意選択的には置換ヘテロシクロアルキルを形成し；

50

R^8 の各例は、独立して、水素、ヒドロキシル、 NR^6R^7 、 C_1-C_4 アルキル、 C_1-C_4 アルコキシ、 C_1-C_4 ハロアルキル、及び C_1-C_4 ハロアルコキシからなる群から選択され；

m は、0、1、2 であり；

n は、0、1、2、又は 3 であり；

l の各例は、独立して、0、1、又は 2 になる）。

【請求項 45】

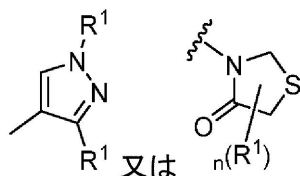
環 A は、アリール又はヘテロアリールである、請求項 44 に記載の化合物。

【請求項 46】

環 A は、

10

【化 2】



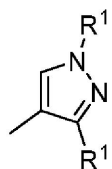
である、請求項 44 に記載の化合物。

【請求項 47】

環 A は、

20

【化 3】



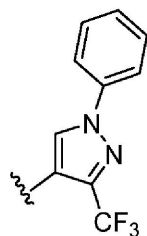
である、請求項 46 に記載の化合物。

【請求項 48】

環 A は、

30

【化 4】



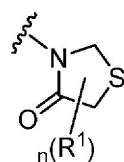
である、請求項 47 に記載の化合物。

40

【請求項 49】

環 A は、

【化 5】



である、請求項 46 に記載の化合物。

50

【請求項 50】

L^1 は、 $-NR^2-C(=O)-$ である、請求項 44～49 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 51】

L^1 は、 $-NH-C(=O)-$ である、請求項 50 に記載の化合物。

【請求項 52】

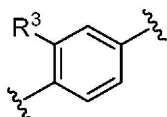
環 B は、単環アリールである、請求項 44～51 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 53】

環 B は、

【化 6】

10



である、請求項 52 に記載の化合物。

【請求項 54】

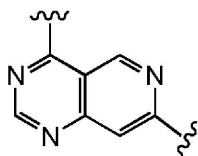
X は、 $-O-$ である、請求項 44～53 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 55】

環 C は、任意選択的には R^4 置換

20

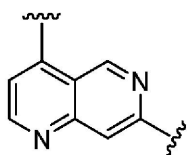
【化 7】



、任意選択的には R^4 置換

【化 8】

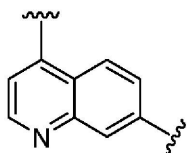
30



、任意選択的には R^4 置換

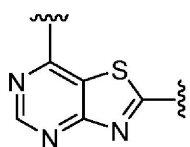
【化 9】

40



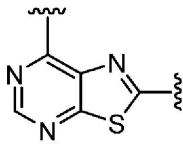
、任意選択的には R^4 置換

【化 10】

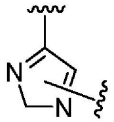


50

、任意選択的には R⁴ 置換
【化 1 1】

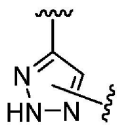


、任意選択的には R⁴ 置換
【化 1 2】



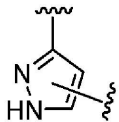
10

、任意選択的には R⁴ 置換
【化 1 3】



20

、又は任意選択的には R⁴ 置換
【化 1 4】



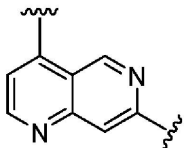
である、請求項 4 4 ~ 5 4 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 5 6】

30

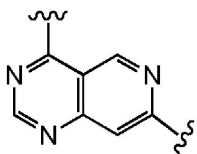
環 C は、任意選択的には R⁴ 置換

【化 1 5】



、任意選択的には R⁴ 置換
【化 1 6】

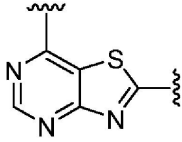
40



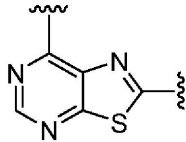
、任意選択的には R⁴ 置換

50

【化 1 7】

、任意選択的には R⁴ 置換

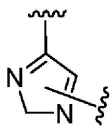
【化 1 8】



10

、又は任意選択的には R⁴ 置換

【化 1 9】



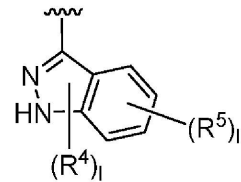
20

である、請求項 5 5 に記載の化合物。

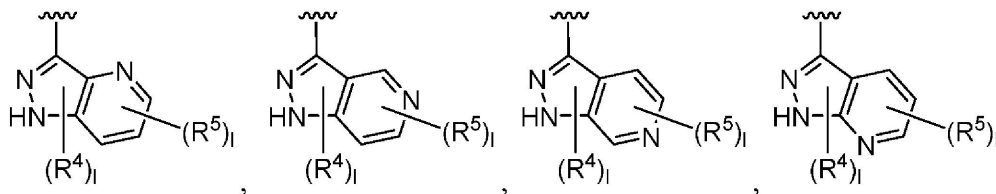
【請求項 5 7】

環 C 及び環 D は、一緒になって、

【化 2 0】



30



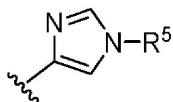
からなる群から選択される融合された二環又は三環構造を形成する、請求項 5 6 に記載の化合物。

【請求項 5 8】

40

環 D は、

【化 2 1】



である、請求項 4 4 ～ 5 7 のいずれか一項に記載の化合物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

50

【0001】

相互参照

【0001】 本願は、2020年11月17日に出願された米国仮特許出願第63／114，930号、及び2019年12月20日に出願された米国仮特許出願第62／951，479号の利益を主張し、それらのそれぞれは、その全体が参照により本明細書中に援用される。

【背景技術】

【0002】

背景

【0002】 トリプルネガティブ乳がんは、乳がんの侵襲性の強いサブタイプであり、乳がん発症の約15～20%を占めると言われている。トリプルネガティブ乳がんは、がん細胞が感受性を示す特定の標的遺伝子が無いため、治療が困難である。

【0003】

【0003】 がん細胞を治療するための一手法は、がん細胞が感受性のある標的遺伝子を同定することを含む。例えば、両遺伝子の阻害が細胞死を引き起こす、合成致死性遺伝子対を同定することは、非がん細胞の生存率を維持する一方でがん細胞を死滅させる治療法として有用であると考えられる。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

概要

【0004】 本明細書では、がんに対する標的化治療及び治療法のための改善された薬剤、並びにがん細胞を有効に標的にするために使用され得る薬剤の組み合わせに対する必要性が認識されている。

【課題を解決するための手段】

【0005】

【0005】 一態様では、がんを有するか又は有することが疑われる対象を治療するための方法であって、表1から選択される1つ以上の遺伝子対の両方のメンバーの発現又は活性の低減を引き起こす1つ以上の薬剤を治療有効量で対象に投与することを含む方法が本明細書に提供される。

【0006】

【0006】 いくつかの実施形態では、1つ以上の薬剤は、小分子、タンパク質、ペプチド、リボ核酸（RNA）分子に加えて、エンドヌクレアーゼ複合体及びデオキシリボ核酸（DNA）構築物からなる群から選択される1つ以上のメンバーを含む。いくつかの実施形態では、DNA構築物は、エンドヌクレアーゼ遺伝子を含む。いくつかの実施形態では、エンドヌクレアーゼ遺伝子は、CRISPR関連（Cas）タンパク質をコードする。いくつかの実施形態では、Casは、Cas9である。いくつかの実施形態では、DNA構築物は、1つ以上の遺伝子対の遺伝子に導かれるガイドRNAを含む。いくつかの実施形態では、エンドヌクレアーゼ複合体は、エンドヌクレアーゼを含む。いくつかの実施形態では、エンドヌクレアーゼは、CRISPR関連（Cas）タンパク質である。いくつかの実施形態では、小分子は、Src阻害剤を含む。いくつかの実施形態では、Src阻害剤は、N-（2-クロロ-6-メチルフェニル）-2-[[6-[[4-（2-ヒドロキシエチル）-1-ピペラジニル]-2-メチル-4-ピリミジニル]アミノ]-5-チアゾールカルボキサミド水和物（ダサチニブ）、N-（5-クロロ-1，3-ベンゾジオキソール-4-イル）-7-（2-（4-メチルピペラジニル-1-イル）エトキシ）-5-（テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イルオキシ）キナゾリン-4-アミン（サラカチニブ）、4-[[（2，4-ジクロロ-5-メトキシフェニル）アミノ]-6-メトキシ-7-[[3-（4-メチルピペラジニル-1-イル）プロポキシ]キノリン-3-カルボニトリル（ボスチニブ）、（4-アミノ-5-（4-メチルフェニル）-7-（*t*-ブチル）ピラゾロ[3，4-*d*]-ピリミジン）、PP2（4-クロロフェニル）-7-（*t*-ブ

10

20

30

40

50

チル) ピラゾロ [3, 4-d] -ピリミジン) (PP1)、1-tert-ブチル-3-(4-クロロフェニル) ピラゾロ [3, 4-d] ピリミジン-4-アミン (PP2)、6-(2, 6-ジクロロフェニル)-2-{[3-(ヒドロキシメチル) フェニル] アミノ}-8-メチル-7H, 8H-ピリド [2, 3-d] ピリミジン-7-オン (PD1663266)、(E)-N-[4-[3-クロロ-4-(ピリジン-2-イルメトキシ) アニリノ]-3-シアノ-7-エトキシキノリン-6-イル]-4-(ジメチルアミノ) but-2-エナミド (ネラチニブ)、3-(2-イミダゾ [1, 2-b] ピリダジン-3-イルエチニル)-4-メチル-N-[4-[(4-メチルピペラジン-1-イル) メチル]-3-(トリフルオロメチル) フェニル] ベンズアミド (ポナチニブ)、(E)-N-[4-(3-クロロ-4-フルオロアニリノ)-3-シアノ-7-エトキシキノリン-6-イル]-4-(ジメチルアミノ) but-2-エナミド (ペリチニブ)、N-ベンジル-2-[5-[4-(2-モルホリン-4-イルエトキシ) フェニル] ピリジン-2-イル] アセトアミド (チルバニブリン)、4-メチル-3-[(2-メチル-6-ピリジン-3-イルピラゾロ [3, 4-d] ピリミジン-4-イル) アミノ]-N-[3-(トリフルオロメチル) フェニル] ベンズアミド (NV P-BHG712)、(2S, 3S)-2, 3-ジヒドロキシブタン二酸; 6-(4-メチルピペラジン-1-イル)-N-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イル)-2-[(E)-2-フェニルエチニル] ピリミジン-4-アミン (ENMD-2076)、4-[4-[(5-tert-ブチル-2-キノリン-6-イルピラゾール-3-イル) カルバモイルアミノ]-3-フルオロフェノキシ]-N-メチルピリジン-2-カルボキサミド (レバステニブ) 又はそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、小分子は、Yes 阻害剤を含む。いくつかの実施形態では、Yes 阻害剤は、(3Z)-N, N-ジメチル-2-オキソ-3-(4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-1H-インドール-2-イルメチリデン)-2, 3-ジヒドロ-1H-インドール-5-スルホンアミド (SU-6656) を含む。いくつかの実施形態では、小分子は、Ron 阻害剤を含む。いくつかの実施形態では、Ron 阻害剤は、N-[4-[(2-アミノ-3-クロロ-4-ピリジニル) オキシ]-3-フルオロフェニル]-4-エトキシ-1-(4-フルオロフェニル)-2-オキソ-3-ピリジンカルボキサミド (BMS777607)、N1'-[3-フルオロ-4-[[6-メトキシ-7-(3-モルホリノプロポキシ)-4-キノリル] オキシ] フェニル]-N1-(4-フルオロフェニル) シクロプロパン-1, 1-ジカルボキサミド (フォレチニブ)、N-(3-フルオロ-4-(2-(1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル) チアゾロ [5, 4-d] ピリミジン-7-イル) オキシ) フェニル)-1-フェニル-5-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-4-カルボキサミド (ENG-009、図20)、N-(3-フルオロ-4-(7-(1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル)-1, 6-ナフチリジン-4-イル) オキシ) フェニル)-1-フェニル-5-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-4-カルボキサミド (ENG-015、図20)、N-(3-フルオロ-4-(6-(1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル)-1H-インダゾール-3-イル) オキシ) フェニル)-1-フェニル-5-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-4-カルボキサミド (ENG-018、図20)、N-(3-フルオロ-4-(2-(1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル) チアゾロ [4, 5-b] ピリジン-7-イル) オキシ) フェニル)-1-フェニル-5-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-4-カルボキサミド (ENG-035、図20)、N-(3-フルオロ-4-(2-(1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル) チエノ [3, 2-b] ピリジン-7-イル) オキシ) フェニル)-1-フェニル-5-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-4-カルボキサミド (ENG-006、図21)、1-(2-(2, 6-ジフルオロフェニル)-4-オキソチアゾリジン-3-イル)-3-(4-(7-(3-(4-エチルピペラジン-1-イル) プロポキシ)-6-メトキシキノリン-4-イル) オキシ)-3, 5-ジフルオロフェニル) 尿素 (ENG-013、図21)、N-[4-[(2-アミノ-3-クロロ-4-ピリジニル) オキシ]-3-フルオロフェニル]-4-エトキシ-1-(4-フルオロフェニル)-2-オキソ

ー 3 - ピリジンカルボキサミド (ENG-007、図 21)、又はそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの実施形態では、がんは、乳がんである。いくつかの実施形態では、乳がんは、トリプルネガティブ乳がんである。

【0007】

【0007】 別の態様では、がんを有するか又は有することが疑われる対象を治療するための組成物であって、表 1 から選択される 1 つ以上の遺伝子対の発現又は活性の低減を引き起こすのに有効な量で存在する少なくとも 1 つの薬剤を含む製剤を含む組成物が本明細書で開示される。いくつかの実施形態では、少なくとも 1 つの薬剤は、小分子、タンパク質、ペプチド、リボ核酸 (RNA) 分子に加えて、エンドヌクレアーゼ複合体及びデオキシリボ核酸 (DNA) 構築物からなる群から選択される 1 つ以上のメンバーを含む。いくつかの実施形態では、DNA 構築物は、エンドヌクレアーゼ遺伝子を含む。いくつかの実施形態では、エンドヌクレアーゼ遺伝子は、CRISPR 関連 (Cas) タンパク質をコードする。いくつかの実施形態では、Cas は、Cas9 である。いくつかの実施形態では、DNA 構築物は、1 つ以上の遺伝子対の遺伝子に導かれるガイド RNA を含む。いくつかの実施形態では、エンドヌクレアーゼ複合体は、エンドヌクレアーゼを含む。いくつかの実施形態では、エンドヌクレアーゼは、CRISPR 関連 (Cas) タンパク質である。いくつかの実施形態では、小分子は、SRC 阻害剤を含む。いくつかの実施形態では、SRC 阻害剤は、N- (2-クロロ-6-メチルフェニル)-2- [[6- [4- (2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジニル]-2-メチル-4-ピリミジニル] アミノ]-5-チアゾールカルボキサミド水和物 (ダサチニブ) を含む。いくつかの実施形態では、小分子は、Yes 阻害剤を含む。いくつかの実施形態では、Yes 阻害剤は、(3Z)-N, N-ジメチル-2-オキソ-3- (4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-1H-インドール-2-イルメチリデン)-2, 3-ジヒドロ-1H-インドール-5-スルホンアミド (SU-6656) を含む。いくつかの実施形態では、小分子は、Ron 阻害剤を含む。いくつかの実施形態では、Ron 阻害剤は、N- [4- [(2-アミノ-3-クロロ-4-ピリジニル) オキシ]-3-フルオロフェニル]-4-エトキシ-1- (4-フルオロフェニル)-2-オキソ-3-ピリジンカルボキサミド (BMS777607)、又は N1'- [3-フルオロ-4- [[6-メトキシ-7- (3-モルホリノプロポキシ)-4-キノリル] オキシ] フェニル]-N1- (4-フルオロフェニル) シクロプロパン-1, 1-ジカルボキサミド (フォレチニブ) を含む。いくつかの実施形態では、がんは、乳がんである。いくつかの実施形態では、乳がんは、トリプルネガティブ乳がんである。

【0008】

【0008】 本開示のさらなる態様及び利点は、本開示のあくまで例示的な実施形態が示され、説明される以下の詳細な説明から当業者に容易に理解されるであろう。理解されるであろうが、本開示は、他の異なる実施形態を可能にし、そのいくつかの詳細は、様々な明白な観点での修飾を可能にし、ここで全ては本開示から逸脱することがない。したがって、図面及び説明は、限定的なものでなく、本質的に例示的なものであるとみなされるべきである。

【0009】

参照による援用

【0009】 本明細書に記載のすべての刊行物、特許、及び特許出願は、各個別の刊行物、特許、及び特許出願が、参照により援用されるべく具体的に且つ個別に示された場合と同じ程度に参照により本明細書中に援用される。参照により援用された刊行物及び特許又は特許出願が本明細書中に含まれる開示内容に矛盾する範囲で、本明細書は、いずれかのかかる矛盾する内容に対して代替し、及び／又は優位性があるように意図される。

【0010】

図面の簡単な説明

【0010】 本発明の新規な特徴は、添付の特許請求の範囲内で具体的に示される。本発明の特徴及び利点のより十分な理解は、本発明の原理や、以下の添付の図面 (さらに本明

10

20

30

40

50

細書中の「図 (Figure) 」及び「図 (FIG.) 」) が利用された、例示的な実施形態を示す以下の詳細な説明を参照することによって得られるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0011】

【図1】[0011] C R I S P Rベースの突然変異誘発を使用し、遺伝子対の発現を低減するためのワークフローを模式的に示す。

【図2A】[0012] C R I S P Rベースのスクリーニングにおける細胞生存率に対する S R C 及び Y E S の二重突然変異の影響を示すデータ例を示す。細胞生存率のバープロットを図示する。

【図2B】[0012] C R I S P Rベースのスクリーニングにおける細胞生存率に対する S R C 及び Y E S の二重突然変異の影響を示すデータ例を示す。細胞生存率のバイオリンプロットを図示する。

【図3】[0013] C R I S P Rベースの検証アッセイにおける細胞生存率に対する S R C 及び Y E S 発現の二重阻害の影響を示すさらなるデータ例を示す。

【図4】[0014] S r c 及び Y e s の発現を低減するためのリボ核酸 (R N A) 手法のさらなるデータ例を示す。

【図5】[0015] S r c 及び Y e s の活性を低減するための小分子手法のさらなるデータ例を示す。

【図6】[0016] S R C 及び Y E S 遺伝子産物関連シグナル伝達経路間の相互作用を模式的に示す。

【図7】[0017] S R C、Y E S、又は両方の遺伝子によって制御されるいくつかの遺伝子の表を示す。

【図8】[0018]異なる腫瘍タイプにおける S R C、Y E S、又は両方の遺伝子による遺伝子の突然変異の例についての表を図示する。

【図9】[0019]乳がん細胞における S R C 及び Y E S 遺伝子の同時発現の範囲についての表を図示する。

【図10】[0020] S r c 及び Y e s の阻害剤に対する細胞の感受性のデータ例を示す。

【図11A】[0021]細胞生存率に対する S R C 及び R O N 遺伝子の C R I S P Rベースの突然変異誘発の影響に関するデータ例を示す。細胞生存率のバープロットを図示する。

【図11B】[0021]細胞生存率に対する S R C 及び R O N 遺伝子の C R I S P Rベースの突然変異誘発の影響に関するデータ例を示す。細胞生存率のバイオリンプロットを図示する。

【図12A】[0022] S r c 阻害の存在下又は不在下での R o n 活性の阻害に対する様々ながん細胞株の感受性の影響を示す。B M S 7 7 7 6 0 7 を使用する R o n 活性の阻害に対する細胞株の感受性のプロットを示す。

【図12B】[0022] S r c 阻害の存在下又は不在下での R o n 活性の阻害に対する様々ながん細胞株の感受性の影響を示す。フォレチニブを使用する R o n の阻害に対する細胞株の感受性のプロットを示す。

【図12C】[0022] S r c 阻害の存在下又は不在下での R o n 活性の阻害に対する様々ながん細胞株の感受性の影響を示す。M e t / R o n 阻害剤を使用する R o n の阻害に対する細胞株の感受性のプロットを示す。

【図13】[0023] S R C 及び R O N 遺伝子産物関連シグナル伝達経路間の相互作用を模式的に図示する。

【図14】[0024] S r c 及び R o n 機能により影響される p 8 5 におけるシグナル伝達経路 (P I 3 K 経路) のサブセットを模式的に示す。

【図15A】[0025]がんタイプにおける S R C 及び R O N 遺伝子対の同時発現及び同時活性化を示す。相関係数のプロットを示す。

【図15B】[0025]がんタイプにおける S R C 及び R O N 遺伝子対の同時発現及び同時活性化を示す。同時活性化のプロットを示す。

【図16A】[0026] S R C 及び R O N におけるシグナル伝達経路を模式的に示す。S R

C及びRONのシグナル伝達経路を示す。

【図16B】[0026]SRC及びRONにおけるシグナル伝達経路を模式的に示す。SRC及びRONの二重阻害が腫瘍増殖の抑制においていかに有効なことがあるかを模式的に示す。

【図17A】[0027]腫瘍組織におけるRON及びSRC発現のデータ例を示す。正常及びがん組織におけるRON発現対SRC発現のプロットを示す。

【図17B】[0027]腫瘍組織におけるRON及びSRC発現のデータ例を示す。トリプルネガティブ乳がん細胞におけるSRC及びRONの発現レベルについての表を示す。

【図18】[0028]SRC阻害剤、RON阻害剤又は双方の組み合わせによる処理の関数としての腫瘍体積のインビボデータ例を示す。

【図19】[0029]RONを選択的に阻害し得る化合物のデータ例を示す。

【図20】[0030]RONを阻害することがある化合物の化学組成物例を示す。

【図21】[0031]RONを阻害することがある化合物のさらなる化学組成物例を示す。

【発明を実施するための形態】

【0012】

詳細な説明

【0032】本発明の様々な実施形態が本明細書に示され、説明されている一方、かかる実施形態があくまで例として提示されることを当業者は理解するであろう。当業者は、本発明から逸脱しない条件で、極めて多数のバリエーション、変化、及び置換えを行ってもよい。本明細書に記載の本発明の実施形態に対する様々な代替案が採用されてもよいことは理解されるべきである。

【0013】

【0033】「少なくとも～」、「～より大きい」又は「～より大きいか又はそれに等しい」という用語は、常に、一連の2つ以上の数値における最初の数値に先行し、「少なくとも～」、「～より大きい」又は「～より大きいか又はそれに等しい」という用語は、その一連の数値における数値のそれぞれに適用される。例えば、1より大きいか又はそれに等しい、2、又は3は、1より大きいか若しくはそれに等しい、2より大きいか若しくはそれに等しい、又は3より大きいか若しくはそれに等しいに等しい。

【0014】

【0034】「～以下」、「～未満」、又は「～より小さいか又はそれに等しい」という用語は、常に、一連の2つ以上の数値における最初の数値に先行し、「～以下」、「～未満」、又は「～より小さいか又はそれに等しい」という用語は、その一連の数値における数値のそれぞれに適用される。例えば、3より小さいか又はそれに等しい、2、又は1は、3より小さいか又はそれに等しい、2より小さいか又はそれに等しい、又は1より小さいか又はそれに等しいに等しい。

【0015】

【0035】「対象」という用語は、本明細書で用いられるとき、一般に、動物、例えば哺乳動物（例えばヒト）、爬虫類、又は鳥類（例えばトリ）、又は他の生物、例えば植物を指す。例えば、対象は、脊椎動物、哺乳動物、齧歯類（例えばマウス）、霊長類、サル又はヒトであり得る。対象は、健常又は無症候な個体、疾患（例えばがん）若しくは疾患に対する素因を有するか若しくは有することが疑われる個体、及び／又は治療を必要とするか若しくは治療を必要とすることが疑われる個体であり得る。対象は、患者であり得る。

【0016】

【0036】「ゲノム」という用語は、本明細書で用いられるとき、一般に、対象からのゲノム情報を指し、それは例えば、対象の遺伝性情報の少なくとも一部又は全体であってもよい。ゲノムは、デオキシリボ核酸（DNA）分子でコードされ得、リボ核酸（RNA）分子で発現されてもよい。ゲノムは、（例えばタンパク質をコードする）コード領域及び非コード領域を含み得る。ゲノムは、生物内の全ての染色体の配列を一緒に含み得る。例えば、ヒトゲノムは、通常、全部で46の染色体を有する。これらの全ての配列は、一

10

20

30

40

50

緒にヒトゲノムを構成してもよい。

【0017】

がんを治療するための方法

【0037】 一態様では、病理、例えばがんの治療のための治療法（例えば併用療法）が本明細書に提供される。がんを有するか又は有することが疑われる対象を治療するための方法は、1つ以上の遺伝子対の両方のメンバーの発現又は活性の低減を引き起こす1つ以上の薬剤を治療有効量で対象に投与することを含み得る。かかる1つ以上の遺伝子対は、がんに関連することがある。いくつかの例では、1つ以上の遺伝子対が表1に提供される。特定の場合、1つ以上の遺伝子対の単一メンバーの活性又は発現の低減は、細胞生存率に対してほとんど効果を有しないことがあるが、1つ以上の遺伝子対の両方のメンバーの活性又は発現の低減は、細胞死をもたらす。

10

【0018】

【0038】 1つ以上の遺伝子対は、対象のがん細胞内で発現されることがある遺伝子対を含んでもよい。いくつかの場合、遺伝子対の一方又は両方のメンバー（例えば遺伝子）は、がん細胞内で正常レベルで発現される（例えば、対象の非がん細胞と比較して過剰発現又は過小発現されない）ことがある一方で、他の場合、遺伝子対の一方又は両方のメンバーは、例えば対照細胞又は細胞集団と比較すると、がん細胞内で高度に発現される、又はがん細胞内で低く発現されることがある。いくつかの場合、遺伝子対の一方のメンバーは、正常レベルで発現されることがある一方で、遺伝子対の他方のメンバーは、正常よりも低い又は高いレベルで発現されることがある。

20

【0019】

【0039】 1つ以上の遺伝子対は、合成致死性遺伝子対を含んでもよい、即ち、遺伝子対のメンバーの一方の阻害又は発現若しくは活性の低減は、単独で細胞（例えばがん細胞）を殺滅するのに十分でないが、遺伝子対の両方のメンバーの阻害又は発現の低減の組み合わせは、細胞死を引き起こす。いくつかの場合、遺伝子対のメンバーのそれぞれの阻害又は発現若しくは活性の低減は、単独で細胞又は細胞集団の生存率の低下をもたらすが、遺伝子対の両方のメンバーの発現若しくは活性の低減は、細胞又は細胞集団の生存率のより大幅な低下をもたらす。例えば、両方のメンバーの発現又は活性の低減は、相乗的に作用し、遺伝子対の各メンバーの発現又は活性の低減からの生存率の低下の合計よりも大幅な生存率の低下を伴うことがある。

30

【0020】

【0040】 1つ以上の遺伝子対は、構成的に活性な遺伝子（例えばハウスキーピング遺伝子）、又は外部因子（例えばリガンド）と独立に発現される遺伝子を含んでもよい。いくつかの場合、遺伝子対の一方又は両方のメンバーは、タンパク質をコードしてもよい。タンパク質は、基質（例えば別のタンパク質又はリガンド、例えば脂質又は炭水化物）をリン酸化し、又はリン酸基を基質に転移することがある、酵素、例えばキナーゼであってもよい。例えば、遺伝子対の一方又は両方のメンバーは、チロシンキナーゼをコードしてもよい。

【0021】

【0041】 いくつかの場合、遺伝子対の一方のメンバーは、遺伝子対の他方のメンバーと相互作用してもよい。いくつかの場合、遺伝子対の一方のメンバーは、遺伝子対の他方のメンバーと直接的に相互作用してもよい。例えば、遺伝子対のメンバーの一方は、遺伝子対の他方のメンバーの上流アゴニスト又はアンタゴニストであるタンパク質であってもよく、又はそれをコードしてもよい。かかる例では、上流アゴニストは、例えば、キナーゼの場合、遺伝子対の他方のメンバーのリン酸化を介し、遺伝子対の他方のメンバーを活性化又は非活性化してもよい。いくつかの場合、遺伝子対の一方のメンバーは、遺伝子対の他方のメンバーと間接的に相互作用してもよい。例えば、遺伝子対の一方のメンバーは、タンパク質シグナル伝達カスケード又はシグナル伝達経路内のタンパク質の上流アゴニスト又はアンタゴニストであるタンパク質又は酵素であってもよく、又はそれをコードしてもよい。1つのかかる例では、遺伝子対のメンバーの一方は、遺伝子対の他方のメンバ

40

50

ーを制御する、もう一方の遺伝子（又はコード化タンパク質）のアゴニスト又はアンタゴニストであってもよい。同様に、遺伝子対のメンバーの一方は、遺伝子対の他方のメンバーを制御してもよい、さらに別の遺伝子（又はコード化タンパク質）を制御する、もう一方の遺伝子（又はコード化タンパク質）のアゴニスト又はアンタゴニストであってもよい。いくつかの場合、メンバーの一方は、遺伝子対の他方のメンバーの上流の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、又はそれ以上の成分（例えば、ノード又は他の遺伝子、タンパク質、若しくはシグナル伝達物質）である別の遺伝子又はタンパク質を制御することがある

【0022】

【0042】 いくつかの場合、遺伝子対のメンバーは、例えばフィードバック機構を介して、互いに制御してもよい。例えば、遺伝子対のメンバーの一方の発現の増加は、遺伝子対の他方のメンバーの発現レベルを増加させ、減少させ、又はそうでなければ変化させてもよく、また同様に、遺伝子対の他方のメンバーの発現の増加は、遺伝子対の第1のメンバーの発現レベルを増加させ、減少させ、又はそうでなければ変化させてもよい。遺伝子対の各メンバーは、遺伝子対の他方のメンバーと直接的に相互作用してもよい（例えば、遺伝子対の他方のメンバーのすぐ上流又は下流であってもよい）。或いは、遺伝子対のメンバーは、間接的に相互作用してもよい。例えば、遺伝子対のメンバーの一方は、遺伝子対の他方のメンバーを制御する、もう一方の遺伝子（又はコード化タンパク質）のアゴニスト又はアンタゴニストであってもよく、またその逆であってもよい。同様に、遺伝子対のメンバーの一方は、遺伝子対の他方のメンバーを制御してもよい、さらに別の遺伝子（又はコード化タンパク質）を制御する、もう一方の遺伝子（又はコード化タンパク質）のアゴニスト又はアンタゴニストであってもよい。いくつかの場合、メンバーの一方は、遺伝子対の他方のメンバーの上流の、1、2、3、4、5、6、7、8、又はそれ以上の成分（例えば、ノード又は他の遺伝子、タンパク質、若しくはシグナル伝達物質）である、もう一方の遺伝子又はタンパク質を制御してもよい。

【0023】

【0043】 いくつかの場合、遺伝子対のメンバーは、下流の同じ遺伝子のサブセットを制御してもよい。例えば、遺伝子対の一方のメンバーは、複数の下流遺伝子を制御してもよく、さらにそれらのサブセットは、遺伝子対の他方のメンバーによって制御される。細胞ががん細胞である場合、下流遺伝子は、がん関連プロセス、例えば、H I P P O経路、上皮間充織転換、P 1 3 K経路、DNA複製、細胞遊走、細胞転移などにおいて重要な遺伝子を含んでもよい。代替的に又は追加的に、遺伝子対のメンバーは、同じ遺伝子のサブセットによって制御されてもよい。かかる場合、遺伝子対の一方のメンバーは、1つ以上の上流遺伝子によって制御されてもよく、さらに1つ以上の上流遺伝子は、遺伝子対の他方のメンバーを制御してもよい。

【0024】

【0044】 遺伝子対のメンバーの一方が、遺伝子対の他方のメンバーと相互作用する場合、一方のメンバーが他方のメンバーと互いに相互作用するか、又は遺伝子対の両方のメンバーが互いに互いに相互作用するかを判定するため、遺伝子相互作用スコア（gene interaction score）が使用されてもよい。遺伝子相互作用スコアは、B l i s s又はG Iスコアを用いて計算され得る。かかる場合、試験における遺伝子対の全組み合わせのリスト（例えば、チロシンキナーゼ遺伝子の全てのペア）が作成されてもよい。次に、各遺伝子対では、相乗的相互作用が生じることがあるか否かに対応することがある、G Iスコアが指定されてもよい。例えば、相乗的相互作用は、個別表現型の相加効果によって予測されるよりも強力な表現型を示す、遺伝子（例えば2つ以上の遺伝子）の組み合わせを含んでもよい。

【0025】

【0045】 G Iスコアは、式： $G I_{A B} = Z_{o b s} - Z_{e x p} = Z_{A B} - (Z_A + Z_B)$ （式中、Aは遺伝子A（遺伝子対の一方のメンバー）を指し、Bは遺伝子B（遺伝子対のもう一方のメンバー）を指し、 $Z_{o b s}$ は観察された表現型であり、 $Z_{e x p}$ は推定され

10

20

30

40

50

た表現型であり、 Z_{AB} は観察された表現型である）を用いて計算されてもよい。G Iスコアは、データ（例えば公的に利用可能なデータ）を用いて、又は実験的に決定されてもよい。G Iスコアはまた、K.Han、E.E.Jeng、及び共著者の手法（“ Synergistic drug combinations for cancer identified in a CRISPR screen for pairwise genetic interactions ” Nature Biotechnology 2017 May;35(5):463-474）（あらゆる目的でその全体が参照により本明細書中に援用される）を用いて計算されてもよい。

【0026】

【0046】 いくつかの場合、遺伝子対の一方又は両方のメンバーの発現又は活性の低減を引き起こすために使用される1つ以上の薬剤は、小分子、タンパク質、ペプチド、リボ核酸（RNA）分子、デオキシリボ核酸（DNA）構築物、又はそれらの組み合わせ（例えば、タンパク質-核酸複合体）を含んでもよい。一例では、1つ以上の薬剤は、タンパク質-核酸複合体、例えばエンドヌクレアーゼ複合体及びDNA構築物を含んでもよい。いくつかの場合、エンドヌクレアーゼ複合体は、クラスター化して規則的な配置の短い回文配列リピート（CRISPR）関連（Cas）タンパク質又はその変異体（例えば改変変異体）を含む。かかる場合、DNA構築物は、エンドヌクレアーゼ複合体と同時投与されてもよい。代替的に又は追加的に、DNA構築物は、エンドヌクレアーゼ遺伝子を含んでもよい。かかる場合、DNA構築物は、Casタンパク質又はその変異体（例えば改変変異体）をコードする遺伝子を含んでもよい。DNA構築物が細胞（例えばがん細胞）に導入又は送達後、DNA構築物は、細胞によって、細胞自身の機構（例えば、ポリメラーゼ、リボソームなど）を用いて転写及び翻訳されてもよい。

【0027】

【0047】 いくつかの場合、DNA構築物は、タンパク質（例えばCasタンパク質）を少なくとも1つの遺伝子対のメンバーの一方又は両方に導くために使用されてもよい、ガイドRNA（gRNA）配列を含んでもよい。DNA構築物は、少なくとも1つのgRNA配列を含んでもよく、それらのそれぞれは、タンパク質（例えばCasタンパク質）を異なる遺伝子に導いてもよい。DNA構築物は、RNA配列、DNA配列、又はそれらの組み合わせを含んでもよい。いくつかの場合、DNA構築物は、（i）エンドヌクレアーゼ（例えばCasタンパク質）を遺伝子対の一方のメンバーにおける標的位置又は遺伝子座に導くために使用されてもよい第1のgRNA配列、（ii）エンドヌクレアーゼ（例えばCasタンパク質）を遺伝子対の他方のメンバーにおける別の標的位置又は遺伝子座に導くために使用されてもよい第2のgRNA配列、（iii）遺伝子対の一方のメンバーに対応する第1の配列（例えばDNA配列）（例えば遺伝子置換）、及び（iv）遺伝子対の他方のメンバーに対応する第2の配列（例えばDNA配列）（例えば遺伝子置換）を含む。RNA配列及びDNA配列の異なる組み合わせがDNA構築物中に使用されてもよいことは理解されるであろう。さらに、他の機能的配列がDNA配列中に含まれてもよく、限定はされないが、バーコード配列、タグ、又は他の同定配列、プライマー配列、制限部位、転位部位などが挙げられる。

【0028】

【0048】 エンドヌクレアーゼ複合体は、エンドヌクレアーゼ、例えば、Casタンパク質、又は他の核酸と相互作用する酵素（nucleic acid-interacting enzyme）（例えば、リガーゼ、ヘリカーゼ、逆転写酵素、転写酵素、ポリメラーゼなど）を含んでもよい。Casタンパク質は、任意のCasタイプ（例えば、Cas I、Cas IA、Cas IB、Cas IC、Cas ID、Cas IE、Cas IF、Cas IU、Cas III、Cas IIIA、Cas IIIB、Cas IIIC、Cas IIID、Cas IV、Cas IVA、Cas IVB、Cas II、Cas IIA、Cas IIB、Cas IIC、Cas V、Cas VI）を含んでもよい。いくつかの場合、Casタンパク質は、他のタンパク質（例えば融合タンパク質）を含んでもよく、核酸分子と会合することがあるさらなる酵素（例えば、リガーゼ、転写酵素、トランスポザーゼ、ヌクレアーゼ、エンドヌクレアーゼ、逆転写酵素、ポリメラーゼ、ヘリカーゼなど）を含んでもよい。エンドヌクレア

ーゼ複合体は、外因的に送達されてもよく、又は細胞内で転写及び翻訳のためのDNA構築物中にコードされてもよい。

【0029】

【0049】 図1は、培養されたがん細胞の集団のタンパク質及び核酸分子による処理の効果を判定するためのワークフロー例を模式的に図示する。かかる例では、核酸分子は、第1のsgRNA配列(sgRNA-A)、第2のsgRNA配列(sgRNA-B)、第1のDNA配列(BC-B)及び第2のDNA配列(BC-A)を含んでもよいDNA構築物を含み得る。第1のDNA配列又は第2のDNA配列、又は第1及び第2のDNA配列の双方は、バーコード配列を含んでもよい。第1のガイド配列は、遺伝子対のメンバーの一方に対する配列相同性を有してもよく、それ故、遺伝子対のメンバーを、タンパク質(例えばエンドヌクレアーゼ、例えばCas9)によって、突然変異誘発を標的にしてもよく、第2のガイド配列は、遺伝子対の他方のメンバーに対する配列相同性を有してもよく、それ故、遺伝子対の他のメンバーを、タンパク質(例えばエンドヌクレアーゼ、例えばCas9)によって、突然変異誘発を標的にしてもよい。細胞(例えば、MDA-MB-231細胞)は、治療有効量のDNA構築物及びタンパク質(例えばCas9)で処理されてもよい。いくつかの場合、DNA構築物は、(例えばリポソーム又は他のナノ粒子を使用する)トランスフェクション又は(例えばウイルスを使用する)形質導入を介して導入されてもよい。タンパク質は、ナノ粒子若しくは他の小胞を使用し、又はタンパク質を細胞培地に添加することによって、投与されてもよい。タンパク質(例えばCas9)では、タンパク質を細胞ゲノム中の特定の遺伝子座又は位置(例えば、遺伝子対のメンバーのそれぞれの遺伝子座)に導くため、sgRNA-A及びsgRNA-Bを使用してもよい。次に、タンパク質により、内因性遺伝子(例えば、遺伝子対のメンバー)が切断及び/又は置換されてもよい。内因性遺伝子を置換する場合、タンパク質(例えばCas9)により、内因性遺伝子が第1のDNA配列(BC-B)及び第2のDNA配列(BC-A)と置換されてもよい。次に、細胞は、ある期間(例えば、7日、14日、20日など)、培養されてもよい。細胞の増殖又は生存率は、測定されてもよく、いくつかの場合、細胞の対照集団と比較されてもよい。いくつかの場合、細胞のゲノム又は細胞の集団は、配列決定されて、細胞又は細胞の集団が突然変異を受けたか否かを(例えば、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)又は配列決定手法を介する、例えば、置換遺伝子中に含まれるバーコードの存在の同定によって)判定してもよい。

10

20

30

【0030】

【0050】 図1に提示されるワークフローは、ハイスループットフォーマットで実施されてもよい。例えば、ワークフローは、調整されてもよく、それにより、10、50、100、500、1000、5000、10000又はそれ以上のスクリーニングが経時的又は並行的に実施されてもよい。かかる場合、核酸分子又はDNA構築物のそれぞれは、異なるsgRNA配列を含んでもよい。かかるハイスループットスクリーニングプロセスの結果は、(例えば、表1に示されるような)合成致死ペアを形成することがある標的の同定において使用されてもよい。例えば、合成致死についてのさらなる検証試験のため、細胞成長、増殖、又は生存率の減少を示す遺伝子対が選択されてもよい。いくつかの場合、個別細胞内に存在するDNA構築物の遺伝子対の同定のため、バーコード配列が使用されてもよい。

40

【0031】

【0051】 いくつかの場合、遺伝子対の一方又は両方のメンバーの発現又は活性の低減を引き起こすために使用される1つ以上の薬剤は、タンパク質又はペプチドを含んでもよい。例えば、1つ以上の薬剤は、抗体、抗体断片、ホルモン、リガンド、又は免疫グロブリンを含んでもよい。タンパク質又はペプチドは、天然に存在してもよく、又は合成であってもよい。タンパク質は、タンパク質の改変変異体(例えば組換えタンパク質)、又はその断片であってもよい。タンパク質は、他の修飾、例えば翻訳後修飾、例えば限定はされないが、グリコシル化、アシル化、プレニル化、リポイル化、アルキル化、アミド化、アセチル化、メチル化、ホルミル化、ブタリル化、カルボキシル化、リン酸化、マロニル

50

化、水酸化、ヨウ素化、プロピオニル化、S-ニトロシル化、S-グルタチオン化、スクシニル化、硫酸化、糖化、カルバミル化、カルボニル化、ビオチン化、カルバミル化、酸化、ペグ化、SUMO化、ユビキチン修飾、ユビキチン化、ラセミ化などを受けてもよい。タンパク質又はペプチドに対し、1つ以上の修飾がなされてもよい。

【0032】

【0052】 いくつかの場合、遺伝子対の一方又は両方のメンバーの発現又は活性の低減を引き起こすために使用される1つ以上の薬剤は、小分子を含んでもよい。小分子は、遺伝子対の一方又は両方のメンバーの発現レベル又は活性レベルを低下させるように設計されてもよい。いくつかの場合、小分子は、遺伝子対の一方又は両方のメンバーと直接的に相互作用してもよい。例えば、小分子は、タンパク質又は遺伝子対の一方若しくは双方のメンバーによってコードされるタンパク質をそれぞれ阻害してもよい。代替的に又は追加的に、小分子は、遺伝子対の一方又は両方のメンバーが相互作用する、シグナル伝達経路内の上流エフェクター又は下流タンパク質を阻害してもよい。

10

【0033】

【0053】 いくつかの場合、小分子阻害剤は、Src阻害剤、例えば、N-(2-クロロ-6-メチルフェニル)-2-[[6-[4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジニル]-2-メチル-4-ピリミジニル]アミノ]-5-チアゾールカルボキサミド水和物(ダサチニブ)、2-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-3,5,7-トリヒドロキシ-4H-クロメン-4-オン(ケルセチン)、PP1又はPP2キナーゼ阻害剤、N-(5-クロロ-1,3-ベンゾジオキソール-4-イル)-7-[2-(4-メチル-1-ピペラジニル)エトキシ]-5-[(テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)オキシ]-4-キナゾリンアミン(サラカチニブ)、4-[(2,4-ジクロロ-5-メトキシフェニル)アミノ]-6-メトキシ-7-[3-(4-メチルピペラジニル-1-イル)プロポキシ]キノリン-3-カルボニトリル(ボスチニブ)、又はN-ベンジル-2-(5-(4-(2-モルホリノエトキシ)フェニル)ピリジン-2-イル)アセトアミド(KX2-391)を含んでもよい。いくつかの場合、小分子阻害剤は、Yes阻害剤、例えば、(3Z)-N,N-ジメチル-2-オキソ-3-(4,5,6,7-テトラヒドロ-1H-インドール-2-イル)メチリデン)-2,3-ジヒドロ-1H-インドール-5-スルホンアミド(SU-6656)、6-(2,6-ジクロロフェニル)-8-メチル-2-{[3(メチルチオ)フェニル]アミノ}ピリド[2,3-d]ピリミジン-7(8H)-オン(PD173955)、2-{[(1R,2S)-2アミノシクロヘキシル]アミノ}-4-{[3-(1,2,3-トリアゾール-2-イル)フェニル]アミノ}ピリミジン-5-カルボキサミド(PRT062607)、又はサラカチニブを含んでもよい。いくつかの場合、小分子阻害剤は、Ron阻害剤、例えば、(N-[4-(2-アミノ-3-クロロピリジン-4-イル)オキシ-3-フルオロフェニル]-4-エトキシ-1-(4-フルオロフェニル)-2-オキソピリジン-3-カルボキサミド)(BMS777607)、N1'-[3-フルオロ-4-[[6-メトキシ-7-(3-モルホリノプロポキシ)-4-キノリル]オキシ]フェニル]-N1-(4-フルオロフェニル)シクロプロパン-1,1-ジカルボキサミド(フォレチニブ)、(2R)-1-[[5-[(Z)-[5-[[(2,6-ジクロロフェニル)メチル]スルホニル]-1,2-ジヒドロ-2-オキソ-3H-インドール-3-イリデン]メチル]-2,4-ジメチル-1H-ピロール-3-イル]カルボニル]-2-(1-ピロリジニルメチル)ピロリジン(PHA665752)、二塩基性コハク酸ナトリウム、4,4'-ビス(4-アミノフェノキシ)ビフェニルなどを含んでもよい。

20

30

40

【0034】

【0054】 いくつかの場合、Src阻害剤は、N-(2-クロロ-6-メチルフェニル)-2-[[6-[4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジニル]-2-メチル-4-ピリミジニル]アミノ]-5-チアゾールカルボキサミド水和物(ダサチニブ)、N-(5-クロロ-1,3-ベンゾジオキソール-4-イル)-7-(2-(4-メチルピペラジニル-1-イル)エトキシ)-5-(テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)オキ

50

シ) キナゾリン-4-アミン (サラカチニブ)、4-[(2, 4-ジクロロ-5-メトキシフェニル) アミノ] -6-メトキシ-7-[3-(4-メチルピペラジン-1-イル) プロポキシ] キノリン-3-カルボニトリル (ボスチニブ)、(4-アミノ-5-(4-メチルフェニル)-7-(*t*-ブチル) ピラゾロ [3, 4-*d*] -ピリミジン)、PP2 (4-クロロフェニル)-7-(*t*-ブチル) ピラゾロ [3, 4-*d*] -ピリミジン) (PP1)、1-*tert*-ブチル-3-(4-クロロフェニル) ピラゾロ [3, 4-*d*] ピリミジン-4-アミン (PP2)、6-(2, 6-ジクロロフェニル)-2-{ [3-(ヒドロキシメチル) フェニル] アミノ} -8-メチル-7H, 8H-ピリド [2, 3-*d*] ピリミジン-7-オン (PD1663266)、(E)-N-[4-[3-クロロ-4-(ピリジン-2-イルメトキシ) アニリノ]-3-シアノ-7-エトキシキノリン-6-イル]-4-(ジメチルアミノ) *but*-2-エナミド (ネラチニブ)、3-(2-イミダゾ [1, 2-*b*] ピリダジン-3-イルエチニル)-4-メチル-N-[4-[(4-メチルピペラジン-1-イル) メチル]-3-(トリフルオロメチル) フェニル] ベンズアミド (ポナチニブ)、(E)-N-[4-(3-クロロ-4-フルオロアニリノ)-3-シアノ-7-エトキシキノリン-6-イル]-4-(ジメチルアミノ) *but*-2-エナミド (ペリチニブ)、N-ベンジル-2-[5-[4-(2-モルホリン-4-イルエトキシ) フェニル] ピリジン-2-イル] アセトアミド (チルバニブリン)、4-メチル-3-[(2-メチル-6-ピリジン-3-イルピラゾロ [3, 4-*d*] ピリミジン-4-イル) アミノ]-N-[3-(トリフルオロメチル) フェニル] ベンズアミド (NVB-HG712)、(2S, 3S)-2, 3-ジヒドロキシブタン二酸; 6-(4-メチルピペラジン-1-イル)-N-(5-メチル-1H-ピラゾール-3-イル)-2-[(E)-2-フェニルエテニル] ピリミジン-4-アミン (ENMD-2076)、4-[4-[(5-*tert*-ブチル-2-キノリン-6-イルピラゾール-3-イル) カルバモイルアミノ]-3-フルオロフェノキシ]-N-メチルピリジン-2-カルボキサミド (レバスチニブ) 又はそれらの任意の組み合わせを含む。

10

20

[0035]

[0055] いくつかの場合、Ron阻害剤は、N-[4-[(2-アミノ-3-クロロ-4-ピリジニル) オキシ]-3-フルオロフェニル]-4-エトキシ-1-(4-フルオロフェニル)-2-オキソ-3-ピリジンカルボキサミド (BMS777607)、N1'-[3-フルオロ-4-[[6-メトキシ-7-(3-モルホリノプロポキシ)-4-キノリル] オキシ] フェニル]-N1-(4-フルオロフェニル) シクロプロパン-1, 1-ジカルボキサミド (フォレチニブ)、N-(3-フルオロ-4-((2-(1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル) チアゾロ [5, 4-*d*] ピリミジン-7-イル) オキシ) フェニル)-1-フェニル-5-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-4-カルボキサミド (ENG-009、図20)、N-(3-フルオロ-4-((7-(1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル)-1, 6-ナフチリジン-4-イル) オキシ) フェニル)-1-フェニル-5-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-4-カルボキサミド (ENG-015、図20)、N-(3-フルオロ-4-((6-(1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル)-1H-インダゾール-3-イル) オキシ) フェニル)-1-フェニル-5-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-4-カルボキサミド (ENG-018、図20)、N-(3-フルオロ-4-((2-(1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル) チアゾロ [4, 5-*b*] ピリジン-7-イル) オキシ) フェニル)-1-フェニル-5-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-4-カルボキサミド (ENG-035、図20)、N-(3-フルオロ-4-((2-(1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル) チエノ [3, 2-*b*] ピリジン-7-イル) オキシ) フェニル)-1-フェニル-5-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-4-カルボキサミド (ENG-006、図21)、1-(2-(2, 6-ジフルオロフェニル)-4-オキソチアゾリジン-3-イル)-3-(4-((7-(3-(4-エチルピペラジン-1-イル) プロポキシ)-6-メトキシキノリン-4-イル) オキシ)-3, 5-ジフルオロフェニル) 尿素 (ENG-013、図21)、N-[4-[(2-アミノ-

30

40

50

3-クロロ-4-ピリジニル)オキシ]-3-フルオロフェニル]-4-エトキシ-1-(4-フルオロフェニル)-2-オキソ-3-ピリジンカルボキサミド(ENG-007、図21)、又はそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの場合、Ron阻害剤は、N-(3-フルオロ-4-((2-(1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル)チアゾロ[5,4-d]ピリミジン-7-イル)オキシ)フェニル)-1-フェニル-5-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-4-カルボキサミド(ENG-009、図20)又はN-(3-フルオロ-4-((7-(1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル)-1,6-ナフチリジン-4-イル)オキシ)フェニル)-1-フェニル-5-(トリフルオロメチル)-1H-ピラゾール-4-カルボキサミド(ENG-015、図20)を含む。いくつかの場合、Ron阻害剤は、最大で1マイクロモル(μM)のRon IC₅₀を含む。いくつかの場合、前記Ron IC₅₀は、短い形態のRon(sfRon) IC₅₀を表す。

10

【0036】

【0056】 いくつかの場合、小分子阻害剤は、小分子阻害剤又はその誘導体の組み合わせを含んでもよい。例えば、小分子阻害剤は、二重特異性のために改変又は修飾されてもよく、遺伝子対の両方のメンバーの発現又は活性を低減してもよい。代替的に又は追加的に、遺伝子対の両方のメンバーの発現又は活性を低減するため、小分子阻害剤の組み合わせ(例えば、小分子「カクテル」)が使用されてもよい。いくつかの場合、小分子阻害剤は、別の薬剤タイプ(例えば、タンパク質、RNA分子、DNA分子など)とともに投与されてもよい。いくつかの場合、Ron阻害剤は、前記Ron阻害剤のRon IC₅₀よりも少なくとも50倍高いcMet IC₅₀を含んでもよい。

20

【0037】

【0057】 小分子阻害剤は、任意の有用な濃度で投与されてもよい。例えば、小分子は、約0.5ナノモル(nM)、約1nM、約10nM、約20nM、約30nM、約40nM、約50nM、約60nM、約70nM、約80nM、約90nM、約100nM、約200nM、約300nM、約400nM、約500nM、約600nM、約700nM、約800nM、約900nM、約1マイクロモル(μM)、約2 μM 、約3 μM 、約4 μM 、約5 μM 、約6 μM 、約7 μM 、約8 μM 、約9 μM 、約10 μM の濃度で投与されてもよい。小分子は、少なくとも約0.5ナノモル(nM)、少なくとも約1nM、少なくとも約10nM、少なくとも約20nM、少なくとも約30nM、少なくとも約40nM、少なくとも約50nM、少なくとも約60nM、少なくとも約70nM、少なくとも約80nM、少なくとも約90nM、少なくとも約100nM、少なくとも約200nM、少なくとも約300nM、少なくとも約400nM、少なくとも約500nM、少なくとも約600nM、少なくとも約700nM、少なくとも約800nM、少なくとも約900nM、少なくとも約1マイクロモル(μM)、少なくとも約2 μM 、少なくとも約3 μM 、少なくとも約4 μM 、少なくとも約5 μM 、少なくとも約6 μM 、少なくとも約7 μM 、少なくとも約8 μM 、少なくとも約9 μM 、少なくとも約10 μM の濃度で投与されてもよい。小分子は、最大で約10 μM 、最大で約9 μM 、最大で約8 μM 、最大で約7 μM 、最大で約6 μM 、最大で約5 μM 、最大で約4 μM 、最大で約3 μM 、最大で約2 μM 、最大で約1 μM 、最大で約900nM、最大で約800nM、最大で約700nM、最大で約600nM、最大で約500nM、最大で約400nM、最大で約300nM、最大で約200nM、最大で約100nM、最大で約90nM、最大で約80nM、最大で約70nM、最大で約60nM、最大で約50nM、最大で約40nM、最大で約30nM、最大で約20nM、最大で約10nM、最大で約1nM、最大で約0.5nMなどの濃度で投与されてもよい。種々の濃度、例えば22nM~1 μM の間)が使用されてもよい。2つ以上の小分子が使用される場合、使用される各小分子における濃度は、同じであっても又は異なってもよい。

30

40

【0038】

【0058】 小分子阻害剤は、任意の有用な用量で投与されてもよい。例えば、小分子は、約50マイクログラム(μg)の用量、約100 μg の用量、約200 μg の用量、約

50

300 μ g の用量、約400 μ g の用量、約500 μ g の用量、約750 μ g の用量、約1ミリグラム (mg) の用量、約1.2 mg の用量、約1.5 mg の用量、約2 mg の用量、約3 mg の用量、約4 mg の用量、約5 mg の用量、約6 mg の用量、約8 mg の用量、約10 mg の用量、約12 mg の用量、約15 mg の用量、約20 mg の用量、約25 mg の用量、約30 mg の用量、約40 mg の用量、約50 mg の用量、約60 mg の用量、約80 mg の用量、約100 mg の用量、約120 mg の用量、約140 mg の用量、約160 mg の用量、約180 mg の用量、約200 mg の用量、約225 mg の用量、約mg の用量、約250 mg の用量、約275 mg の用量、約300 mg の用量、約350 mg の用量、約400 mg の用量、約500 mg の用量、約600 mg の用量、約800 mg の用量で投与されてもよい。小分子阻害剤は、任意の有用な用量で投与されてもよい。例えば、小分子は、少なくとも50 マイクログラム (μ g) の用量、少なくとも100 μ g の用量、少なくとも200 μ g の用量、少なくとも300 μ g の用量、少なくとも400 μ g の用量、少なくとも500 μ g の用量、少なくとも750 μ g の用量、少なくとも1ミリグラム (mg) の用量、少なくとも1.2 mg の用量、少なくとも1.5 mg の用量、少なくとも2 mg の用量、少なくとも3 mg の用量、少なくとも4 mg の用量、少なくとも5 mg の用量、少なくとも6 mg の用量、少なくとも8 mg の用量、少なくとも10 mg の用量、少なくとも12 mg の用量、少なくとも15 mg の用量、少なくとも20 mg の用量、少なくとも25 mg の用量、少なくとも30 mg の用量、少なくとも40 mg の用量、少なくとも50 mg の用量、少なくとも60 mg の用量、少なくとも80 mg の用量、少なくとも100 mg の用量、少なくとも120 mg の用量、少なくとも140 mg の用量、少なくとも160 mg の用量、少なくとも180 mg の用量、少なくとも200 mg の用量、少なくとも225 mg の用量、少なくともmg の用量、少なくとも250 mg の用量、少なくとも275 mg の用量、少なくとも300 mg の用量、少なくとも350 mg の用量、少なくとも400 mg の用量、少なくとも500 mg の用量、少なくとも600 mg の用量、少なくとも800 mg の用量で投与されてもよい。小分子阻害剤は、最大で800 mg の用量、最大で600 mg の用量、最大で500 mg の用量、最大で400 mg の用量、最大で300 mg の用量、最大で250 mg の用量、最大で225 mg の用量、最大で200 mg の用量、最大で180 mg の用量、最大で160 mg の用量、最大で140 mg の用量、最大で120 mg の用量、最大で100 mg の用量、最大で80 mg の用量、最大で60 mg の用量、最大で50 mg の用量、最大で40 mg の用量、最大で30 mg の用量、最大で25 mg の用量、最大で20 mg の用量、最大で15 mg の用量、最大で12 mg の用量、最大で10 mg の用量、最大で8 mg の用量、最大で6 mg の用量、最大で5 mg の用量、最大で4 mg の用量、最大で3 mg の用量、最大で2 mg の用量、最大で1.5 mg の用量、最大で1.2 mg の用量、最大で1 mg の用量、最大で750 μ g の用量、最大で600 μ g の用量、最大で500 μ g の用量、最大で400 μ g の用量、最大で350 μ g の用量、最大で300 μ g の用量、最大で250 μ g の用量、最大で200 μ g の用量、最大で180 μ g の用量、最大で150 μ g の用量、最大で120 μ g の用量、最大で100 μ g の用量、最大で80 μ g の用量、最大で50 μ g の用量、最大で20 μ g の用量、最大で10 μ g の用量で投与されてもよい。2つ以上の小分子が使用される場合、使用される各小分子における用量は、同じであっても又は異なってもよい。2つ以上の小分子が使用される場合、使用される各分子における投与頻度は、同じであっても又は異なってもよい。

10

20

30

40

50

【0039】

【0059】 いくつかの場合、遺伝子対の一方又は両方のメンバーの発現又は活性の低減を引き起こすために使用される1つ以上の薬剤は、核酸分子、例えばRNA分子を含んでもよい。RNA分子は、遺伝子対の一方又は両方のメンバーの発現レベル又は活性を低下させるのに十分である任意の好適なRNA分子及びサイズを含み得る。RNA分子は、低分子ヘアピン型RNA (shRNA) 分子、低分子干渉RNA (siRNA)、マイクロRNA (miRNA)、又は他の有用なRNA分子を含んでもよい。いくつかの例では、RNA分子は、メッセンジャーRNA (mRNA)、転移RNA (tRNA)、リボソ-

ムRNA (rRNA)、核内低分子RNA (snRNA)、Piwi相互作用 (piRNA)、非翻訳RNA (ncRNA)、長鎖非翻訳RNA (lncRNA)、及び上記のいずれかの断片を含んでもよい。RNA分子は、一本鎖、二本鎖、又は部分的な一本鎖若しくは二本鎖であってもよい。

【0040】

【0060】 1つ以上の薬剤（例えば、ペプチド、RNA分子、タンパク質-核酸複合体）が例として列挙され、対象を治療するため、薬剤タイプの組み合わせが使用されてもよいことは理解されるであろう。例えば、1つ以上の遺伝子対の両方のメンバーの発現又は活性を低減するため、1つ以上の異なるタイプの薬剤の投与が使用されてもよい。例えば、タンパク質又はペプチドは、小分子、RNA分子、DNA分子、又は複合型分子（例えば、タンパク質-核酸分子）と同時投与されてもよい。同様に、RNA分子は、小分子、DNA分子、又は複合型分子とともに投与されてもよい。別の例では、小分子は、DNA分子又は複合型分子と同時投与されてもよい。これらの組み合わせは、がんを有するか又は有することが疑われる対象を治療するために使用されてもよい薬剤の異なる組み合わせの非限定例である。

10

【0041】

【0061】 いくつかの場合、治療が選択されるがんは、乳がんを含んでもよい。いくつかの場合、乳がんは、トリプルネガティブ乳がんであってもよい。他の場合、治療が選択されるがんは、がん細胞が感受性であるバイオマーカー又は標的遺伝子がほとんど知られていない、侵襲性がんタイプを含んでもよい。いくつかの場合、がんは、増加したSrc発現レベルを含む。いくつかの場合、がんは、増加したRon発現レベルを含む。いくつかの場合、がんは、増加したSrc及びRon発現レベルを含む。いくつかの場合、がんは、構成的に活性なSrcを含む。いくつかの場合、がんは、短い形態のRon (sfRon)を含む。

20

【0042】

【0062】 表1は、両方のメンバーの発現又は活性の低減が細胞死を引き起こすことがある、遺伝子対のリストを提示する。遺伝子A及び遺伝子Bは、遺伝子対遺伝子A__遺伝子Bの個別メンバーを指す。修正GIは、遺伝子対についての修正された遺伝子相互作用スコアである。遺伝子対は、合成致死性遺伝子対であってもよく、それ故、一方のメンバーのみの発現又は活性の低減は、細胞死を引き起こすことがないが、両方のメンバーの発現又は活性の低減は、細胞死の原因になるか又はそれを引き起こすことがある。

30

【0043】

40

50

【表 1】

表 1. 遺伝子対及び各遺伝子対における修正された遺伝子相互作用スコアのリスト。

	遺伝子 A_遺伝子 B	修正 GI
1	SRC_YES1	-3.165
2	RON_SRC	-2.405
3	AXL_PTK2	-2.396
4	ERBB2_WEE1	-2.353
5	ERBB3_ABL2	-2.173
6	PTK2_TYRO3	-2.121
7	RON_AXL	-2.098
8	EPHB3_ABL2	-2.073
9	PTK2B_PTK2	-2.005
10	JAK2_WEE1	-1.993
11	EPHA5_SRC	-1.889
12	SRC_EPHB6	-1.859
13	WEE1_TNK1	-1.844
14	WEE1_ERBB3	-1.837
15	EPHA5_PTK2	-1.671

10

20

30

40

50

【0044】

【0063】 別の態様では、がんを有するか又は有することが疑われる対象を治療するための組成物であって、表 1 から選択された 1 つ以上の遺伝子対の発現又は活性の低減を引き起こすのに有効な量で存在する少なくとも 1 つの薬剤を含む製剤を含む組成物が本明細書で開示される。

【0045】

【0064】 いくつかの場合、組成物は、タンパク質（例えば Cas タンパク質）を少なくとも 1 つの遺伝子対のメンバーの一方又は両方に導くために使用されてもよいガイド RNA（gRNA）配列を含んでもよい DNA 構築物を含む。DNA 構築物は、少なくとも 1 つの gRNA 配列を含んでもよく、それらのそれぞれは、タンパク質（例えば Cas タンパク質）を異なる遺伝子に導いてもよい。DNA 構築物は、RNA 配列、DNA 配列、

又はそれらの組み合わせを含んでもよい。いくつかの場合、DNA構築物は、(i) エンドヌクレアーゼ（例えばCasタンパク質）を遺伝子対の一方のメンバーにおける標的位置又は遺伝子座に導くために使用されてもよい第1のgRNA配列、(ii) エンドヌクレアーゼ（例えばCasタンパク質）を遺伝子対の他方のメンバーにおける別の標的位置又は遺伝子座に導くために使用されてもよい第2のgRNA配列、(iii) 遺伝子対の一方のメンバーに対応する第1の配列（例えばDNA配列）（例えば遺伝子置換）、及び(iv) 遺伝子対の他方のメンバーに対応する第2の配列（例えばDNA配列）（例えば遺伝子置換）を含む。RNA配列及びDNA配列の異なる組み合わせがDNA構築物中に使用されてもよいことは理解されるであろう。さらに、他の機能的配列がDNA配列中に含まれてもよく、限定はされないが、バーコード配列、タグ、又は他の同定配列、プライマー配列、制限部位、転位部位などが挙げられる。

10

【0046】

【0065】 エンドヌクレアーゼ複合体は、エンドヌクレアーゼ、例えば、Casタンパク質、又は他の核酸と相互作用する酵素（例えば、リガーゼ、ヘリカーゼ、逆転写酵素、転写酵素、ポリメラーゼなど）を含んでもよい。Casタンパク質は、任意のCasタイプ（例えば、CasI、CasIA、CasIB、CasIC、CasID、CasIE、CasIF、CasIU、CasIII、CasIIIA、CasIIIB、CasIIC、CasIID、CasIV、CasIVA、CasIVB、CasII、CasIIA、CasIIB、CasIIC、CasV、CasVI）を含んでもよい。いくつかの場合、Casタンパク質は、他のタンパク質（例えば融合タンパク質）を含んでもよく、核酸分子と会合することがあるさらなる酵素（例えば、リガーゼ、転写酵素、トランスポザーゼ、ヌクレアーゼ、エンドヌクレアーゼ、逆転写酵素、ポリメラーゼ、ヘリカーゼなど）を含んでもよい。エンドヌクレアーゼ複合体は、外因的に送達されてもよく、又は細胞内で転写及び翻訳のためのDNA構築物中にコードされてもよい。

20

【0047】

【0066】 DNA構築物は、RNA配列、DNA配列、又はそれらの組み合わせを含んでもよい。いくつかの場合、DNA構築物は、(i) エンドヌクレアーゼ（例えばCasタンパク質）を遺伝子対の一方のメンバーにおける標的位置又は遺伝子座に導くために使用されてもよい第1のgRNA配列、(ii) エンドヌクレアーゼ（例えばCasタンパク質）を遺伝子対の他方のメンバーにおける別の標的位置又は遺伝子座に導くために使用されてもよい第2のgRNA配列、(iii) 遺伝子対の一方のメンバーに対応する第1の配列（例えばDNA配列）（例えば遺伝子置換）、及び(iv) 遺伝子対の他方のメンバーに対応する第2の配列（例えばDNA配列）（例えば遺伝子置換）を含む。RNA配列及びDNA配列の異なる組み合わせがDNA構築物中に使用されてもよいことは理解されるであろう。さらに、他の機能的配列がDNA配列中に含まれてもよく、限定はされないが、バーコード配列、タグ、又は他の同定配列、プライマー配列、制限部位、転位部位などが挙げられる。

30

【0048】

【0067】 いくつかの場合、組成物は、遺伝子対の一方又は両方のメンバーの発現又は活性の低減を引き起こすために使用される1つ以上の薬剤を含み、タンパク質又はペプチドを含んでもよい。例えば、1つ以上の薬剤は、抗体、抗体断片、ホルモン、リガンド、又は免疫グロブリンを含んでもよい。タンパク質又はペプチドは、天然に存在してもよく、又は合成であってもよい。タンパク質は、タンパク質の改変変異体（例えば組換えタンパク質）、又はその断片であってもよい。タンパク質は、他の修飾、例えば翻訳後修飾、例えば限定はされないが、グリコシル化、アシル化、プレニル化、リポイル化、アルキル化、アミド化、アセチル化、メチル化、ホルミル化、ブタリル化、カルボキシル化、リン酸化、マロニル化、水酸化、ヨウ素化、プロピオニル化、S-ニトロシル化、S-グルタチオン化、スクシニル化、硫酸化、糖化、カルバミル化、カルボニル化、ビオチン化、カルバミル化、酸化、ペグ化、SUMO化、ユビキチン修飾、ユビキチン化、ラセミ化などを受けてもよい。タンパク質又はペプチドに対し、1つ以上の修飾がなされてもよい。

40

50

【0049】

【0068】 いくつかの場合、組成物は、遺伝子対の一方又は両方のメンバーの発現又は活性の低減を引き起こすために使用される1つ以上の薬剤を含んでもよく、小分子を含んでもよい。小分子は、遺伝子対の一方又は両方のメンバーの発現レベル又は活性レベルを低下させるように設計されてもよい。いくつかの場合、小分子は、遺伝子対の一方又は両方のメンバーと直接的に相互作用してもよい。例えば、小分子は、タンパク質又は遺伝子対の一方若しくは双方のメンバーによってコードされるタンパク質のそれぞれを阻害してもよい。代替的に又は追加的に、小分子は、遺伝子対の一方又は両方のメンバーが相互作用するシグナル伝達経路内の上流エフェクター又は下流タンパク質を阻害してもよい。

【0050】

【0069】 いくつかの場合、小分子阻害剤は、Src阻害剤、例えば、ダサチニブ、ケルセチン、PP1若しくはPP2キナーゼ阻害剤、サラカチニブ、ボスチニブ、又はKX2-391を含んでもよい。いくつかの場合、小分子阻害剤は、Yes阻害剤、例えば、SU-6656、PD173955、PRT062607、又はサラカチニブを含んでもよい。いくつかの場合、小分子阻害剤は、Ron阻害剤、例えば、BMS777607、フォレチニブ、PHA665752、コハク酸ナトリウム二塩基性、4,4'-ビス(4-アミノフェノキシ)ビフェニルなどを含んでもよい。いくつかの場合、小分子阻害剤は、小分子阻害剤又はその誘導体の組み合わせを含んでもよい。例えば、小分子阻害剤は、二重特異性について改変又は修飾されてもよく、遺伝子対の両方のメンバーの発現を低減してもよい。代替的に又は追加的に、遺伝子対の両方のメンバーの発現又は活性を低減するため、小分子阻害剤の組み合わせが使用されてもよい。

【0051】

【0070】 小分子阻害剤は、二次標的を阻害してもよい。二次標的は、タンパク質、巨大分子錯体、リボザイム、又はそれらの任意の組み合わせを含んでもよい。二次標的は、一次標的に関連性があってもよい（例えば、Src阻害剤に対するSrc）。例えば、Ron又はSrc阻害剤は、二次標的としてのタンパク質キナーゼを含んでもよい。小分子阻害剤は、二次標的に対して同等の若しくはより低い親和性（例えばK_d）又は阻害活性（例えばIC₅₀）を有してもよい。かかる二次標的の親和性又は阻害活性は、がん、例えばトリプルネガティブ乳がんを治療するための小分子阻害剤の有効性を増強してもよい。Ron又はSrc小分子阻害剤は、タンパク質キナーゼ二次標的、例えば、Tyro3、cKit、EGFR、JAK2、又はPDK1を含んでもよい。

【0052】

【0071】 逆に、小分子阻害剤は、主に単一タンパク質を標的にしてもよい。特定の場合、小分子阻害剤は、主に、単一タンパク質キナーゼ、例えば、Ron、Src、Yes1を標的にしてもよい。例えば、小分子阻害剤のその一次標的に対するIC₅₀は、小分子阻害剤の二次標的に対するIC₅₀よりも、少なくとも10倍、少なくとも20倍、少なくとも25倍、少なくとも40倍、少なくとも50倍、少なくとも100倍、又は少なくとも200倍低くてもよい。さらなる例として、小分子阻害剤は、タンパク質クラスからの単一タンパク質に対する、1 μM未満、5 μM、10 μM、20 μM未満、25 μM未満、40 μM未満、50 μM未満、又は100 μM未満のIC₅₀を含んでもよい（例えば、小分子阻害剤は、単なる単一タンパク質キナーゼに対する1 μM未満のIC₅₀を含んでもよい）。

【0053】

【0072】 いくつかの場合、組成物は、遺伝子対の一方又は両方のメンバーの発現又は活性の低減を引き起こすために使用される1つ以上の薬剤を含んでもよく、核酸分子、例えばRNA分子を含んでもよい。RNA分子は、遺伝子対の一方又は両方のメンバーの発現レベル又は活性を低下させるのに十分である任意の好適なRNA分子及びサイズを含む。RNA分子は、低分子ヘアピン型RNA（shRNA）分子、低分子干渉RNA（siRNA）、マイクロRNA（miRNA）、又は他の有用なRNA分子を含んでもよい。いくつかの例では、RNA分子は、メッセンジャーRNA（mRNA）、転移RNA（t

RNA)、リボソームRNA (rRNA)、核内低分子RNA (snRNA)、Piwi相互作用 (piRNA)、非翻訳RNA (ncRNA)、長鎖非翻訳RNA (lncRNA)、及び上記のいずれかの断片を含んでもよい。RNA分子は、一本鎖、二本鎖、又は部分的な一本鎖若しくは二本鎖であってもよい。

【0054】

【0073】 1つ以上の薬剤（例えば、ペプチド、RNA分子、タンパク質-核酸複合体）が例として列挙され、薬剤タイプの組み合わせが組成物に含まれてもよいことは理解されるであろう。例えば、組成物は、1つ以上の遺伝子対の両方のメンバーの発現又は活性を低減するために使用されてもよい1つ以上の異なるタイプの薬剤を含んでもよい。例えば、組成物は、小分子、RNA分子、DNA分子、又は複合型分子（例えば、タンパク質-核酸分子）と同時投与されてもよいタンパク質又はペプチドを含んでもよい。同様に、組成物は、小分子、DNA分子、又は複合型分子とともに投与されてもよいRNA分子を含んでもよい。別の例では、小分子は、DNA分子又は複合型分子と同時投与されてもよい。これらの組み合わせは、本明細書に記載の組成物中で使用されてもよい薬剤の異なる組み合わせの非限定例である。

10

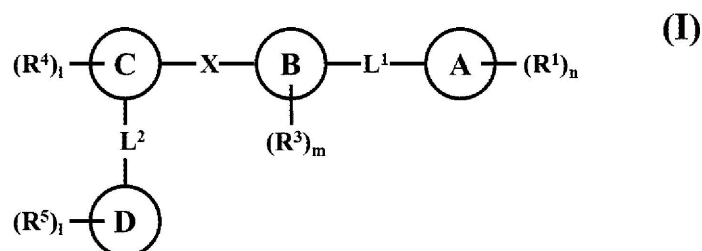
【0055】

Ron選択的阻害剤

【0074】 一態様では、式(I)の化合物、又はその薬学的に許容できる塩、溶媒和化合物、互変異性体、若しくはN-オキシド：

20

【化1】



30

(式中、

環Aは、ヘテロシクロアルキル、アリール又は単環ヘテロアリールであり；

L¹は、結合、-C(=O)-、-C(=O)-NR²-、-C(=O)-O-、-C(=O)-S-、-NR²-C(=O)-、-O-C(=O)-、-S-C(=O)-、-NR²-C(=O)-NR²-、-NR²-C(=S)-NR²-、-NR²-C(=O)-O-、-O-C(=O)-O-、-NR²-、-O-、-S-、又は-S(=O)₂-であり；

環Bは、アリール又はヘテロアリールであり；

Xは、結合、-NR²-、-O-、-S-、-S(=O)₂-、-C(=O)-、-C(=O)-NR²-、-C(=O)-O-、-C(=O)-S-、-NR²-C(=O)-、-O-C(=O)-、又は-S-C(=O)-であり；

40

環Cは、5員ヘテロ芳香族、二環融合芳香族、又は二環融合ヘテロ芳香族であり；

L²は、結合、-O-、-NR²-、-S-、又は-S(=O)₂-、又は代替的には、L²は、不在であり、環Cは、環Dと融合され；

環Dは、アリール、ヘテロアリール、C₃-C₆シクロアルキル、又はC₂-C₅ヘテロシクロアルキルであり；

R¹の各例は、独立して、任意選択的には置換アリール、任意選択的には置換ヘテロアリール、ハロゲン、-NO₂、-NR⁶R⁷、ヒドロキシル、-C(=O)-R⁸、C₁-C₄アルキル、C₁-C₄アルコキシ、C₁-C₄ハロアルキル、C₁-C₄ヘテロアルキレン、及びC₁-C₄ハロアルコキシからなる群から選択され；

R²の各例は、独立して、水素、C₁-C₄アルキル、C₁-C₄ヒドロキシアルキル

50

、 C_1-C_4 ヘテロアルキレン、及び C_1-C_4 ハロアルキルからなる群から選択され；
 R^3 の各例は、独立して、ハロゲン、 $-NO_2$ 、 $-NR^6R^7$ 、ヒドロキシル、 $-C(=O)-R^8$ 、 C_1-C_4 アルキル、 C_1-C_4 アルコキシ、 C_1-C_4 ヘテロアルキレン、 C_1-C_4 ハロアルキル、及び C_1-C_4 ハロアルコキシからなる群から選択され；

R^4 の各例は、独立して、任意選択的には置換アリール、任意選択的には置換ヘテロアリール、任意選択的には置換 C_3-C_6 シクロアルキル、任意選択的には置換 C_2-C_5 ヘテロシクロアルキル、ハロゲン、 $-NR^6R^7$ 、ヒドロキシル、 $-C(=O)-R^8$ 、 C_1-C_4 アルキル、 C_1-C_4 アルコキシ、 C_1-C_4 ハロアルキル、 C_1-C_4 ヘテロアルキレン、及び C_1-C_4 ハロアルコキシからなる群から選択され、又は2つの R^4 は、一緒になって、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アリール、又はヘテロアリールを形成し；

10

R^5 の各例は、独立して、ハロゲン、 $-NR^6R^7$ 、ヒドロキシル、 $-C(=O)-R^8$ 、 C_1-C_4 アルキル、 C_1-C_4 ヒドロキシアルキル、 C_1-C_4 ヘテロアルキレン、 C_1-C_4 アルコキシ、 C_1-C_4 ハロアルキル、及び C_1-C_4 ハロアルコキシからなる群から選択され；

R^6 及び R^7 の各例は、独立して、水素、 C_1-C_4 アルキル、 C_1-C_4 ハロアルキル、及び C_1-C_4 ヒドロキシアルキルからなる群から選択され、又は R^6 及び R^7 は、それらの結合対象の窒素原子と一緒に、任意選択的には置換ヘテロシクロアルキルを形成し；

R^8 の各例は、独立して、水素、ヒドロキシル、 NR^6R^7 、 C_1-C_4 アルキル、 C_1-C_4 アルコキシ、 C_1-C_4 ハロアルキル、及び C_1-C_4 ハロアルコキシからなる群から選択され；

20

m は、0、1、2であり；

n は、0、1、2、又は3であり；

l の各例は、独立して、0、1、又は2になる）

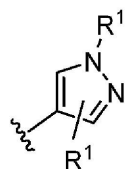
が本明細書に提供される。

【0056】

【0075】 いくつかの場合、環Aは、アリール又はヘテロアリールである。いくつかの場合、環Aは、ヘテロアリールである。いくつかの場合、環Aは、5員ヘテロアリールである。いくつかの場合、環Aは、ピロール、イミダゾール、ピラゾール、トリアゾール、チアゾール、イソキサゾール、チアゾリドン、又はオキサジアゾールである。いくつかの場合、環Aは、イミダゾール、チアゾリドン、又はピラゾールである。いくつかの場合、環Aは、チアゾリドン又はピラゾールである。いくつかの場合、環Aは、ピラゾールである。いくつかの場合、環Aは、チアゾリドンである。いくつかの場合、環Aは、

30

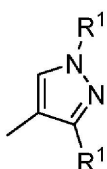
【化2】



40

である。いくつかの場合、環Aは、

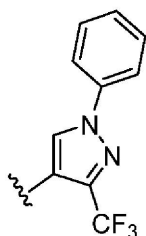
【化3】



である。いくつかの場合、環Aは、

50

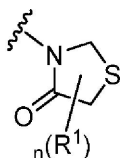
【化 4】



である。いくつかの場合、環 A は、

10

【化 5】



である。

【0057】

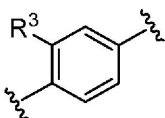
【0076】 いくつかの場合、 L^1 は、 $-NR^2-C(=O)-$ 、 $-O-C(=O)-$ 、又は $-S-C(=O)-$ である。いくつかの場合、 L^1 は、 $-NR^2-C(=O)-$ である。いくつかの場合、 L^1 は、 $-NH-C(=O)-$ である。

20

【0058】

【0077】 いくつかの場合、環 B は、単環アリール又は単環ヘテロアリールである。いくつかの場合、環 B は、フェニル、ピリジン、ピリミジン、ピロール、ピラゾール、イミダゾール、トリアゾール、チアゾール、オキサゾール、チオフェン、又はフランである。いくつかの場合、環 B は、フェニルである。いくつかの場合、環 B は、

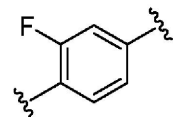
【化 6】



30

である。いくつかの場合、環 B は、

【化 7】



40

である。

【0059】

【0078】 いくつかの場合、X は、 $-NH-$ 、 $-N(CH_3)-$ 、 $-CH_2-$ 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、又は $-S(=O)_2-$ である。いくつかの場合、X は、 $-O-$ 又は $-S-$ である。いくつかの場合、X は、 $-O-$ である。

【0060】

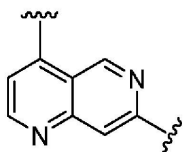
【0079】 いくつかの場合、環 C は、ベンゾチアゾール、チアゾロ [5, 4-c] ピリジン、チアゾロ [4, 5-b] ピリジン、チアゾロ [4, 5-d] ピリミジン、チアゾロ [5, 4-d] ピリミジン、チアゾロ [5, 4-b] ピリジン、チアゾロ [4, 5-c] ピリジン、ナフタレン、ピロリジン、イソインドール、インドリジン、キノリン、イソキ

50

ノリン、4H-キノリジン、インダゾール、キノキサリン、キナゾリン、フタラジン、シンノリン、ナフチリジン、1H-インダゾール、プリン、プテリジン、ピロール、ピラゾール、イミダゾール、トリアゾール、チアゾール、オキサゾール、チオフェン、又はフランである。いくつかの場合、環Cは、チアゾロ[5,4-c]ピリジン、チアゾロ[4,5-b]ピリジン、チアゾロ[4,5-d]ピリミジン、チアゾロ[5,4-d]ピリミジン、チアゾロ[5,4-b]ピリジン、チアゾロ[4,5-c]ピリジン、ナフタレン、キノリン、キナゾリン、キノキサリン、1,5-ナフチリジン、2,6-ナフチリジン、1,6-ナフチリジン、1H-インダゾール、ピラゾール、ピロール、又はイミダゾールである。いくつかの場合、環Cは、ベンゾチアゾール、チアゾロ[5,4-c]ピリジン、チアゾロ[4,5-b]ピリジン、チアゾロ[4,5-d]ピリミジン、1,5-ナフチリジン、2,6-ナフチリジン、1,6-ナフチリジン、ピロール、ピラゾール、イミダゾール、又はチアゾールである。いくつかの場合、環Cは、チアゾロ[5,4-d]ピリミジン、チアゾロ[4,5-d]ピリミジン、1,6-ナフチリジン、キノリン、2,6-ナフチリジン、ピラゾール、又はイミダゾールである。いくつかの場合、環Cは、任意選択的にはR⁴置換

10

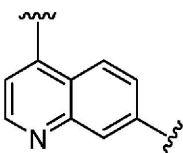
【化8】



20

、任意選択的にはR⁴置換

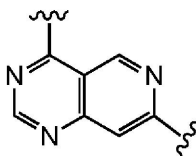
【化9】



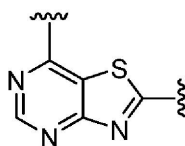
30

、任意選択的にはR⁴置換

【化10】

、任意選択的にはR⁴置換

【化11】

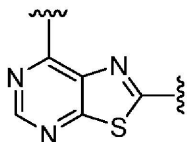


40

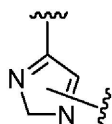
、任意選択的にはR⁴置換

50

【化 1 2】

、任意選択的には R⁴ 置換

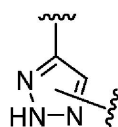
【化 1 3】



10

、任意選択的には R⁴ 置換

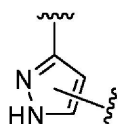
【化 1 4】



20

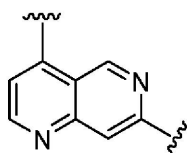
、又は任意選択的には R⁴ 置換

【化 1 5】

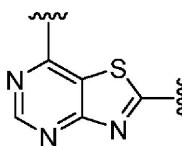
である。いくつかの場合、環 C は、任意選択的には R⁴ 置換

30

【化 1 6】

、任意選択的には R⁴ 置換

【化 1 7】

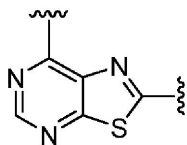


40

、任意選択的には R⁴ 置換

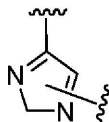
50

【化 18】



、又は任意選択的には R^4 置換

【化 19】



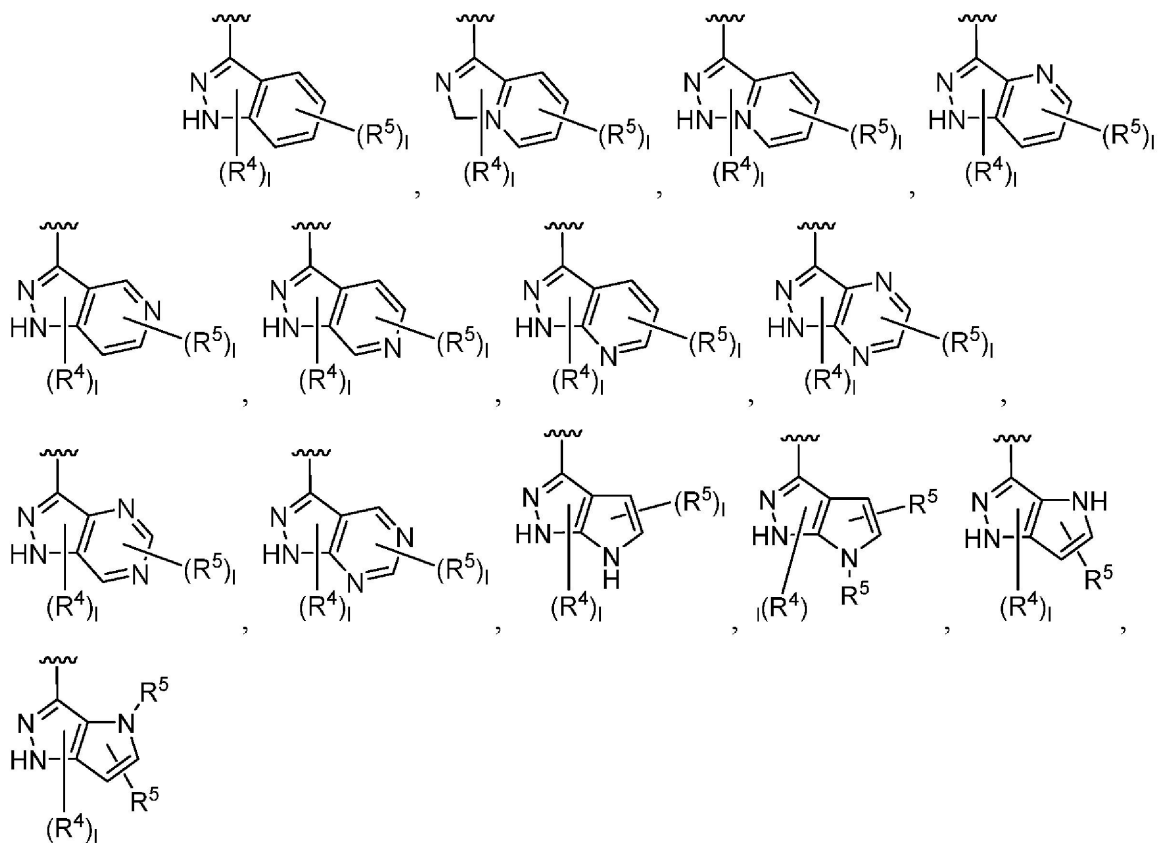
10

である。

【0061】

【0080】 いくつかの場合、 L^2 は、不在であり、環 C 及び環 D は、一緒になって、融合された二環又は三環構造を形成する。いくつかの場合、二環構造は、

【化 20】



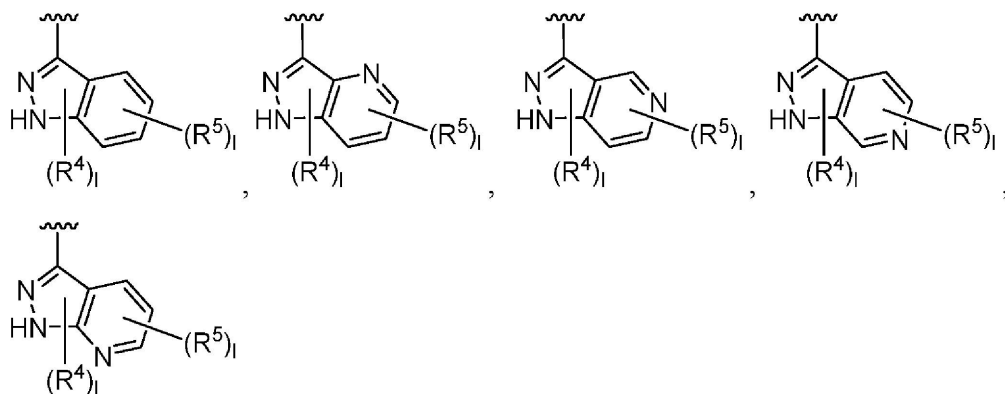
20

30

40

からなる群から選択される。いくつかの場合、二環構造は、

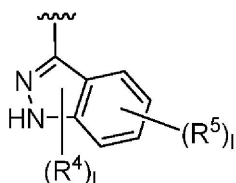
【化 2 1】



10

からなる群から選択される。いくつかの場合、二環構造は、

【化 2 2】



20

である。

【0062】

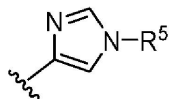
【0081】 いくつかの場合、 L^2 は、結合、 $-O-$ 、 $-NR^2-$ 、又は $-CH_2-$ である。いくつかの場合、 L^2 は、結合である。

【0063】

【0082】 いくつかの場合、環 D は、アリール、又は 5 員若しくは 6 員ヘテロアリールである。いくつかの場合、環 D は、5 員又は 6 員ヘテロアリールである。いくつかの場合、環 D は、ピロール、ピラゾール、イミダゾール、トリアゾール、チアゾール、チオフェン、オキサゾール、又はフランである。いくつかの場合、環 D は、ピロール、ピラゾール、イミダゾール、又はトリアゾールである。いくつかの場合、環 D は、ピラゾール又はイミダゾールである。いくつかの場合、環 D は、

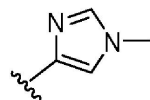
30

【化 2 3】



である。いくつかの場合、環 D は、

【化 2 4】



40

である。

【0064】

【0083】 いくつかの場合、 R^1 の各例は、独立して、任意選択的には置換アリール、任意選択的には置換ヘテロアリール、ハロゲン、 C_1-C_4 アルキル、及び C_1-C_4 ハロアルキルからなる群から選択される。いくつかの場合、 R^1 の各例は、 C_1-C_4 ハロアルキル、ハロゲン、 C_1-C_4 アルキル、及び任意選択的には置換アリールからなる群

50

から選択される。いくつかの場合、 R^1 の各例は、 $C_1 - C_4$ ハロアルキル及び任意選択的には置換アリールからなる群から選択される。いくつかの場合、 R^1 の各例は、 C_1 ハロアルキル及びフェニルからなる群から選択される。

【0065】

【0084】 いくつかの場合、 R^2 の各例は、独立して、水素及び $C_1 - C_4$ アルキルからなる群から選択される。いくつかの場合、 R^2 の各例は、水素である。

【0066】

【0085】 いくつかの場合、 R^3 の各例は、独立して、ハロゲン、 $-NR^6R^7$ 、ヒドロキシル、 $-C(=O)-R^8$ 、 $C_1 - C_4$ アルキル、及び $C_1 - C_4$ ハロアルキルからなる群から選択される。いくつかの場合、 R^3 の各例は、独立して、ハロゲン、ヒドロキシル、 $C_1 - C_4$ アルキル、及び $C_1 - C_4$ ハロアルキルからなる群から選択される。いくつかの場合、 R^3 の各例は、独立して、ハロゲン及びヒドロキシルからなる群から選択される。いくつかの場合、 R^3 の各例は、ハロゲンである。いくつかの場合、 R^3 の各例は、Fである。

10

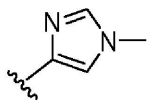
【0067】

【0086】 いくつかの場合、 R^4 の各例は、独立して、任意選択的には置換アリール、任意選択的には置換ヘテロアリール、任意選択的には置換 $C_3 - C_6$ シクロアルキル、任意選択的には置換 $C_2 - C_5$ ヘテロシクロアルキル、ハロゲン、及び $C_1 - C_4$ ハロアルキルからなる群から選択される。いくつかの場合、 R^4 の各例は、独立して、任意選択的には置換アリール、任意選択的には置換ヘテロアリール、及び任意選択的には置換 $C_2 - C_5$ ヘテロシクロアルキルからなる群から選択される。いくつかの場合、 R^4 の各例は、独立して、任意選択的には置換アリール及び任意選択的には置換ヘテロアリールからなる群から選択される。いくつかの場合、 R^4 の各例は、任意選択的には置換フェニル、任意選択的には置換ピリジン、任意選択的には置換ピリミジン、任意選択的には置換ピロール、任意選択的には置換ピラゾール、任意選択的には置換イミダゾール、任意選択的には置換トリアゾール、任意選択的には置換チアゾール、任意選択的には置換チオフエン、任意選択的には置換オキサゾール、及び任意選択的には置換フランからなる群から選択される。いくつかの場合、 R^4 の各例は、任意選択的には置換フェニル、任意選択的には置換ピロール、任意選択的には置換ピラゾール、及び任意選択的には置換イミダゾールからなる群から選択される。いくつかの場合、 R^4 の各例は、任意選択的には置換ピラゾール及び任意選択的には置換イミダゾールからなる群から選択される。いくつかの場合、 R^4 の各例は、任意選択的には置換イミダゾールである。いくつかの場合、 R^4 の各例は、

20

30

【化25】



である。

【0068】

【0087】 いくつかの場合、 R^5 の各例は、独立して、ハロゲン、ヒドロキシル、 $C_1 - C_4$ アルキル及び $C_1 - C_4$ ハロアルキルからなる群から選択される。いくつかの場合、 R^5 の各例は、独立して、ハロゲン及び $C_1 - C_4$ アルキルからなる群から選択される。いくつかの場合、 R^5 の各例は、 $C_1 - C_4$ アルキルである。

40

【0069】

【0088】 いくつかの場合、 R^6 及び R^7 の各例は、独立して、水素及び $C_1 - C_4$ アルキルからなる群から選択される。いくつかの場合、 R^6 の各例は、独立して、水素、 $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ ハロアルキル、又は $C_1 - C_4$ ヒドロキシアルキルからなる群から選択され、 R^7 の各例は、水素である。いくつかの場合、 R^6 の各例は、独立して、 $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ ハロアルキル、又は $C_1 - C_4$ ヒドロキシアルキルからなる群から選択され、 R^7 の各例は、水素である。いくつかの場合、 R^6 及び R^7 の

50

各例は、独立して、水素及び $C_1 - C_4$ アルキルからなる群から選択される。いくつかの場合、 R^6 及び R^7 の各例は、水素である。

【0070】

【0089】 いくつかの場合、 R^8 の各例は、独立して、ヒドロキシル、 NR^6R^7 、 $C_1 - C_4$ アルキル、及び $C_1 - C_4$ アルコキシからなる群から選択される。いくつかの場合、 R^8 の各例は、独立して、ヒドロキシル及び $C_1 - C_4$ アルコキシからなる群から選択される。

【0071】

【0090】 いくつかの場合、 m は 1 又は 2 であり、 n は 2 であり、 l は、それぞれ独立して 0 及び 1 のいずれかである。いくつかの場合、 m は 1 であり、 n は 2 であり、 l は、それぞれ独立して 0 及び 1 のいずれかである。いくつかの場合、 m は 1 であり、 n は 2 であり、 l は 0 である。

10

【0072】

【0091】 「任意選択的には置換された」は、オキソ、カルボン酸、ニトリル、ニトロ、ヒドロキシル、チオキシ、アルキル、アルキレン、アルコキシ、アルコシアルキル、アルキルカルボニル、アルキルオキシカルボニル、アリール、アラルキル、アリールカルボニル、アリールオキシカルボニル、アラルキルカルボニル、アラルキルオキシカルボニル、アリールオキシ、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、シクロアルキルカルボニル、シクロアルキルアルキルカルボニル、シクロアルキルオキシカルボニル、ヘテロシクリル、ヘテロアリール、ジアルキルアミン、アリールアミン、アルキルアリールアミン、ジアリールアミン、ペルフルオロアルキル又はペルフルオロアルコキシ、例えば、トリフルオロメチル又はトリフルオロメトキシとの置換を意味してもよい。「置換された」は、水素原子の、オキソ基、カルボニル基、カルボキシル基、及びエステル基における酸素；並びにイミン、オキシム、ヒドラゾン、及びニトリルなどの基における窒素などのヘテロ原子へのより高次の結合（例えば、二重又は三重結合）による置換も意味し得る。いくつかの場合、「任意選択的には置換された」は、ハロゲン、 $-NO_2$ 、スルフリル、ホスホリル、 $-NH_2$ 、ヒドロキシル、 $-C(=O)-O-Me$ 、 $-C(=O)-N(Me)_2$ 、 $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ アルコキシ、 $C_1 - C_4$ ハロアルキル、及び $C_1 - C_4$ ハロアルコキシ、又はそれらの任意の組み合わせの 1 つ以上の例との置換を意味する。いくつかの場合、「任意選択的には置換された」は、ハロゲン、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、ヒドロキシル、 $-C(=O)-O-Me$ 、 $-C(=O)-N(Me)_2$ 、 $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ アルコキシ、 $C_1 - C_4$ ハロアルキル、及び $C_1 - C_4$ ハロアルコキシ、又はそれらの任意の組み合わせの 1 つ以上の例との置換を意味する。いくつかの場合、「任意選択的には置換された」は、ハロゲン、 $-NH_2$ 、ヒドロキシル、 $C_1 - C_4$ アルキル、 $C_1 - C_4$ ハロアルキル、又はそれらの任意の組み合わせの 1 つ以上の例との置換を意味する。いくつかの場合、「任意選択的には置換された」は、ハロゲン、 C_1 ハロアルキル、メチル、又はそれらの任意の組み合わせの 1 つ以上の例との置換を意味する。いくつかの場合、「任意選択的には置換された」は、 $-F$ 、 $-CF_3$ 、メチル、又はそれらの任意の組み合わせの 1 つ以上の例との置換を意味する。いくつかの場合、任意選択的な置換が存在しない。

20

30

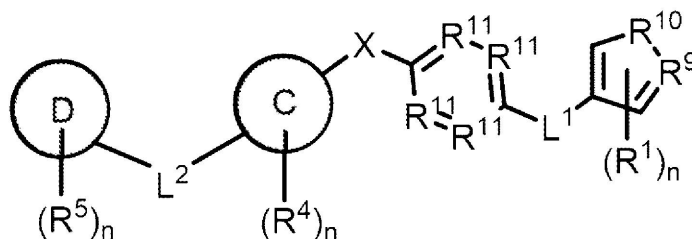
40

【0073】

【0092】 いくつかの場合、式 (I) の化合物又はその薬学的に許容できる塩、溶媒和化合物、互変異性体若しくは N -オキシドは、式 (Ia) の構造

【化 2 6】

(Ia)



10

(式中、 R^9 は、N、CH、又は CR^1 であり、 R^{10} は、NH 又は NR^1 であり、 R^{11} の各例は、N、CH、又は CR^3 である) を含む。

【0074】

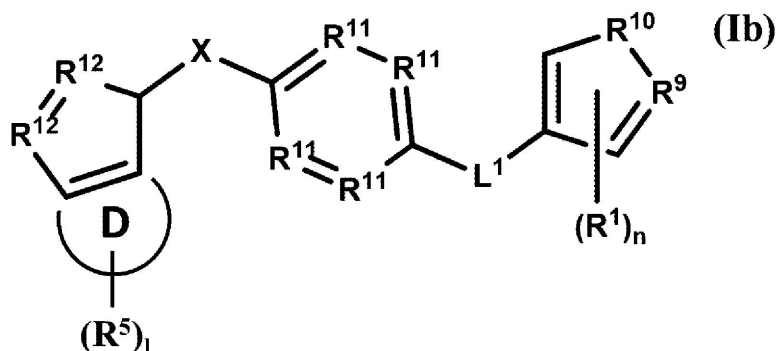
[0093] いくつかの場合、 R^9 は N であり、 R^{10} は NR^1 であり、少なくとも 2 つの R^{11} は CH である。いくつかの場合、 R^9 は N であり、 R^{10} は NR^1 であり、少なくとも 3 つの R^{11} は CH である。いくつかの場合、 R^9 は N であり、 R^{10} は NR^1 であり、3 つの R^{11} は CH であり、1 つの R^{11} は CR^3 である。

【0075】

[0094] いくつかの場合、式 (Ia) の化合物又はその薬学的に許容できる塩、溶媒和化合物、互変異性体、若しくは N-オキシドは、式 (Ib) の構造

20

【化 2 7】



30

(式中、環 D は、環 C と融合され、 R^{12} の各例は、独立して、N、CH、及び CR^4 から選択される) を含む。いくつかの場合、 R^{12} の両方の例は N である。いくつかの場合、 R^{12} の 1 つの例は N であり、 R^{12} の 1 つの例は CH 又は CR^4 である。いくつかの場合、 R^{12} の両方の例は CR^4 である。いくつかの場合、 R^{12} の両方の例は CH である。いくつかの場合、 R^{12} の両方の例は CR^4 であり、ここで R^4 の 2 つの例は、一緒になって、アリール基又はヘテロアリール基を形成する。

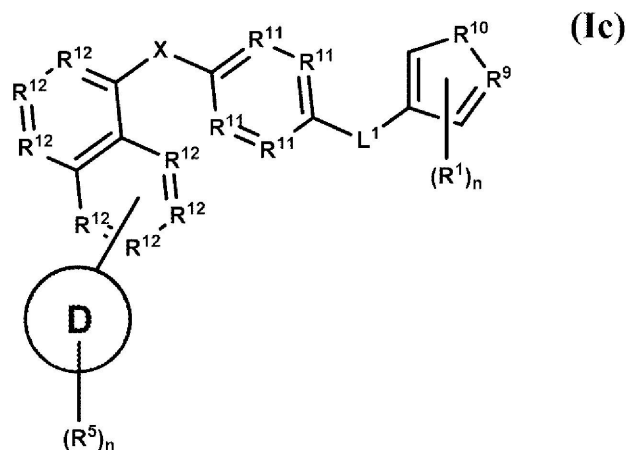
【0076】

[0095] いくつかの場合、式 (Ia) の化合物又はその薬学的に許容できる塩、溶媒和化合物、互変異性体、若しくは N-オキシドは、式 (Ic) の構造

40

50

【化 2 8】



10

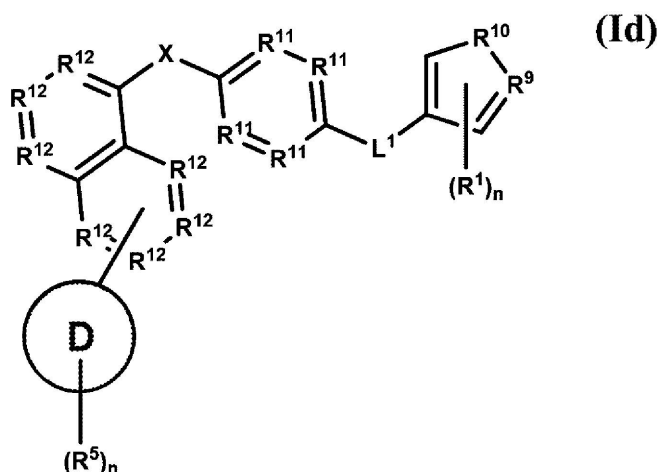
(式中、 R^{12} の各例は、独立して、N、CH、及び CR^4 から選択される)を含む。いくつかの場合、 R^{12} の1つ又は2つの例はNであり、 R^{12} の残りはCH又は CR^4 である。いくつかの場合、 R^{12} の2つの例はNであり、 R^{12} の残りはCH又は CR^4 である。いくつかの場合、 R^{12} の2つの例はNであり、 R^{12} の残りはCHである。いくつかの場合、 R^{12} の2つの例は CR^4 であり、ここで R^4 の2つの例は、一緒になって、アリール基又はヘテロアリール基を形成する。

20

【0077】

【0096】 いくつかの場合、式(Ia)の化合物又はその薬学的に許容できる塩、溶媒和化合物、互変異性体、若しくはN-オキシドは、式(Id)の構造

【化 2 9】



30

(式中、 R^{12} の各例は、独立して、N、CH、及び CR^4 からなる群から選択される)を含む。いくつかの場合、 R^{12} の1つ又は2つの例はNであり、 R^{12} の残りはCH又は CR^4 である。いくつかの場合、 R^{12} の2つの例はNであり、 R^{12} の残りはCH又は CR^4 である。いくつかの場合、 R^{12} の2つの例はNであり、 R^{12} の残りはCHである。いくつかの場合、 R^{12} の2つの例は CR^4 であり、ここで R^4 の2つの例は、一緒になって、アリール基又はヘテロアリール基を形成する。

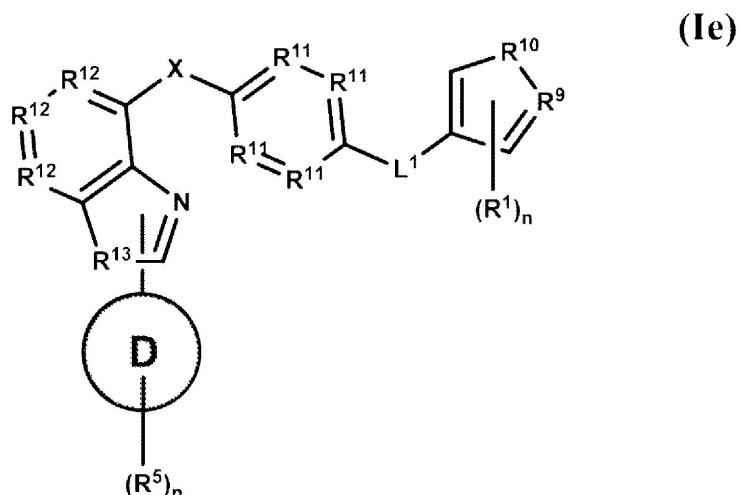
40

【0078】

【0097】 いくつかの場合、式(Ia)の化合物又はその薬学的に許容できる塩、溶媒和化合物、互変異性体、若しくはN-オキシドは、式(Ie)の構造：

50

【化 3 0】



10

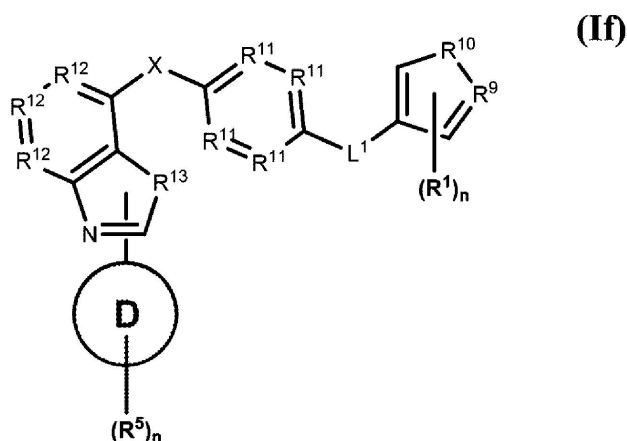
(式中、R¹²の各例は、独立して、N、CH、及びCR⁴からなる群から選択され、R¹³は、NH、NR⁴、O、又はSである)を含む。いくつかの場合、R¹³は、O又はSである。いくつかの場合、R¹³はSである。いくつかの場合、R¹²の1つ又は2つの例はNであり、R¹²の残りはCH又はCR⁴である。いくつかの場合、R¹²の2つの例はNであり、R¹²の残りはCH又はCR⁴である。いくつかの場合、R¹²の2つの例はNであり、R¹²の残りはCHである。いくつかの場合、R¹²の2つの例はCR⁴であり、ここでR⁴の2つの例は、一緒になって、アリール基又はヘテロアリール基を形成する。

20

【0079】

[0098] いくつかの場合、式(Ia)の化合物又はその薬学的に許容できる塩、溶媒和化合物、互変異性体、若しくはN-オキシドは、式(Ie)の構造：

【化 3 1】



30

(式中、R¹²の各例は、独立して、N、CH、及びCR⁴からなる群から選択され、R¹³は、NH、NR⁴、O、又はSである)を含む。いくつかの場合、R¹³は、O又はSである。いくつかの場合、R¹³はSである。いくつかの場合、R¹²の1つ又は2つの例はNであり、R¹²の残りはCH又はCR⁴である。いくつかの場合、R¹²の2つの例はNであり、R¹²の残りはCH又はCR⁴である。いくつかの場合、R¹²の2つの例はNであり、R¹²の残りはCHである。いくつかの場合、R¹²の2つの例はCR⁴であり、ここでR⁴の2つの例は、一緒になって、アリール基又はヘテロアリール基を形成する。

40

【0080】

50

【0099】 いくつかの場合、式（I）の化合物は、N-（3-フルオロ-4-（（7-（1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル）-1, 6-ナフチリジン-4-イル）オキシ）フェニル）-1-フェニル-5-（トリフルオロメチル）-1H-ピラゾール-4-カルボキサミド（ENG-015、図20）、N-（3-フルオロ-4-（（6-（1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル）-1H-インダゾール-3-イル）オキシ）フェニル）-1-フェニル-5-（トリフルオロメチル）-1H-ピラゾール-4-カルボキサミド（ENG-018、図20）、N-（3-フルオロ-4-（（2-（1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル）チアゾロ[4, 5-b]ピリジン-7-イル）オキシ）フェニル）-1-フェニル-5-（トリフルオロメチル）-1H-ピラゾール-4-カルボキサミド（ENG-035、図20）、又はN-（3-フルオロ-4-（（2-（1-メチル-1H-イミダゾール-4-イル）チアゾロ[5, 4-d]ピリミジン-7-イル）オキシ）フェニル）-1-フェニル-5-（トリフルオロメチル）-1H-ピラゾール-4-カルボキサミド（ENG-009、図20）である。

10

【0081】

【00100】 いくつかの場合、式（I）の化合物は、Ron阻害活性を含んでもよい。化合物は、最大で1 μ MのRon IC₅₀を含んでもよい。化合物は、最大で500 nMのRon IC₅₀を含んでもよい。化合物は、最大で400 nMのRon IC₅₀を含んでもよい。化合物は、最大で300 nMのRon IC₅₀を含んでもよい。化合物は、最大で200 nMのRon IC₅₀を含んでもよい。化合物は、最大で100 nMのRon IC₅₀を含んでもよい。化合物は、最大で80 nMのRon IC₅₀を含んでもよい。化合物は、最大で60 nMのRon IC₅₀を含んでもよい。化合物は、最大で500 nMのRon IC₅₀を含んでもよい。化合物は、最大で40 nMのRon IC₅₀を含んでもよい。化合物は、最大で30 nMのRon IC₅₀を含んでもよい。化合物は、最大で20 nMのRon IC₅₀を含んでもよい。化合物は、最大で15 nMのRon IC₅₀を含んでもよい。化合物は、最大で10 nMのRon IC₅₀を含んでもよい。化合物は、最大で8 nMのRon IC₅₀を含んでもよい。化合物は、最大で6 nMのRon IC₅₀を含んでもよい。化合物は、最大で5 nMのRon IC₅₀を含んでもよい。化合物は、最大で3 nMのRon IC₅₀を含んでもよい。化合物は、最大で2 nMのRon IC₅₀を含んでもよい。化合物は、最大で1 nMのRon IC₅₀を含んでもよい。

20

30

【0082】

【00101】 いくつかの場合、式（I）の化合物は、cMet阻害活性を含んでもよい。化合物は、少なくとも50 nMのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも100 nMのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも200 nMのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも400 nMのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも500 nMのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも600 nMのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも800 nMのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも1 μ MのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも2 μ MのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも3 μ MのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも4 μ MのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも5 μ MのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも8 μ MのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも10 μ MのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも12 μ MのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも15 μ MのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも20 μ MのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも25 μ MのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも40 μ MのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも50 μ MのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも80 μ MのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも100 μ MのcMet IC₅₀を含んでもよい。化合物は、少なくとも120 μ M

40

50

の c M e t I C ₅₀ を含んでもよい。化合物は、少なくとも 150 μ M の c M e t I C ₅₀ を含んでもよい。化合物は、少なくとも 200 μ M の c M e t I C ₅₀ を含んでもよい。化合物は、少なくとも 250 μ M の c M e t I C ₅₀ を含んでもよい。化合物は、少なくとも 300 μ M の c M e t I C ₅₀ を含んでもよい。化合物は、少なくとも 400 μ M の c M e t I C ₅₀ を含んでもよい。化合物は、少なくとも 500 μ M の c M e t I C ₅₀ を含んでもよい。

【0083】

【00102】 いくつかの場合、式 (I) の化合物は、c M e t 阻害活性よりも高い R o n 阻害活性を含んでもよい。化合物は、前記化合物の R o n I C ₅₀ の少なくとも 2 倍である c M e t I C ₅₀ を含んでもよい。化合物は、前記化合物の R o n I C ₅₀ よりも少なくとも 5 倍高い c M e t I C ₅₀ を含んでもよい。化合物は、前記化合物の R o n I C ₅₀ よりも少なくとも 10 倍高い c M e t I C ₅₀ を含んでもよい。化合物は、前記化合物の R o n I C ₅₀ よりも少なくとも 20 倍高い c M e t I C ₅₀ を含んでもよい。化合物は、前記化合物の R o n I C ₅₀ よりも少なくとも 25 倍高い c M e t I C ₅₀ を含んでもよい。化合物は、前記化合物の R o n I C ₅₀ よりも少なくとも 50 倍高い c M e t I C ₅₀ を含んでもよい。化合物は、前記化合物の R o n I C ₅₀ よりも少なくとも 100 倍高い c M e t I C ₅₀ を含んでもよい。化合物は、前記化合物の R o n I C ₅₀ よりも少なくとも 200 倍高い c M e t I C ₅₀ を含んでもよい。化合物は、前記化合物の R o n I C ₅₀ よりも少なくとも 400 倍高い c M e t I C ₅₀ を含んでもよい。

【0084】

【00103】 いくつかの場合、環 A 又は環 A の置換基 (A - R¹) における小さい変化は、(例えば、c M e t などの他のタンパク質キナーゼを上回る) R o n に対する選択性を調節してもよい。いくつかの場合、環 C 又は環 C の置換基における小さい変化は、R o n に対する阻害活性を調節 (例えば、R o n I C ₅₀ に影響) してもよい。例えば、低い R o n I C ₅₀ を有する式 (I) の R o n 阻害剤は、R o n に対するその選択性を増強するため、環 A (又はその置換基、A - R¹) で修飾されてもよい。

【0085】

【00104】 以下の用語は、本明細書で用いられるとき、特に指示のない限り、以下の意味を有する。

「アミノ」は、- N H₂ 基を指す。

【0086】

【00105】 「シアノ」は、- C N 基を指す。

【0087】

【00106】 「ヒドロキシ」又は「ヒドロキシル」は、- O H 基を指す。

【0088】

【00107】 「ニトロ」は、- N O₂ 基を指す。

【0089】

【00108】 「オキソ」は、= O 置換基を指す。

【0090】

【00109】 「アリール」は、水素、6 ~ 30 の炭素原子及び少なくとも 1 つの芳香環を含む炭化水素環系に由来する基を指してもよい。アリール基は、融合又は架橋環系を含んでもよい、単環式、二環式、三環式又は四環式環系であってもよい。アリール基として、限定はされないが、ベンゼン、インダン、インデン、及びナフタレンの炭化水素環系に由来するアリール基が挙げられる。

【0091】

【00110】 「ヘテロアリール」は、水素原子、1 ~ 13 の炭素原子、窒素、酸素、亜リン酸及び硫黄からなる群から選択される 1 ~ 6 のヘテロ原子、並びに少なくとも 1 つの芳香環を含む、5 ~ 14 員環系基を指してもよい。本発明の目的として、ヘテロアリール基は、融合又は架橋環系を含んでもよい、単環式、二環式、三環式又は四環式環系であ

てもよく；ヘテロアリール基における窒素、炭素又は硫黄原子は、任意選択的には酸化されてもよく；窒素原子は、任意選択的には四級化されてもよい。

【0092】

【00111】「アルキル」は、単結合により分子の残りに結合される、直線状又は分岐状の炭化水素鎖基を指してもよい。最大で10個の炭素原子を含むアルキルは、 $C_{1}-C_{10}$ アルキルと称され、同様に、例えば、最大で6個の炭素原子を含むアルキルは、 $C_{1}-C_{6}$ アルキルであり、最大で4個の炭素原子を含むアルキルは、 $C_{1}-C_{4}$ アルキルである。他の数の炭素原子を含むアルキル（及び本明細書で定義される他の部分）は同様に表される。代表的なアルキル基として、限定はされないが、メチル、エチル、 n -プロピル、1-メチルエチル（イソプロピル）、 n -ブチル、 i -ブチル、 s -ブチル、 n -ペンチル、1,1-ジメチルエチル（ t -ブチル）、3-メチルヘキシル、2-メチルヘキシルなどが挙げられる。本明細書中で具体的な特段の記載がない限り、アルキル基は、任意選択的には、下記のように置換されてもよい。「アルキレン」又は「アルキレン鎖」は、分子の残りを遊離基に連結する、直線状又は分岐状の二価炭化水素鎖を指す。

10

【0093】

【00112】「アルコキシ」は、式ORの基（式中、Rは定義のようなアルキル基である）を指してもよい。本明細書中で具体的な特段の記載がない限り、アルコキシ基は、任意選択的には、下記のように置換されてもよい。

【0094】

【00113】「ヘテロアルキレン」は、上記のようなアルキル基を指してもよく、ここでアルキルの1つ以上の炭素原子は、O、N又はS原子で置換される。「ヘテロアルキレン」又は「ヘテロアルキレン鎖」は、分子の残りを遊離基に連結する、直線状又は分岐状の二価ヘテロアルキル鎖を指す。本明細書中で具体的な特段の記載がない限り、ヘテロアルキル基又はヘテロアルキレン基は、任意選択的には、下記のように置換されてもよい。代表的なヘテロアルキル基として、限定はされないが、 OCH_2CH_2OMe 、 $OCH_2CH_2OCH_2CH_2NH_2$ 、又は $OCH_2CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2N(Me)_2$ が挙げられる。

20

【0095】

【00114】「シクロアルキル」は、飽和又は不飽和であり、単結合により分子の残りに結合される、融合又は架橋環系を含んでもよい、安定な非芳香族の単環式又は多環式の炭素環式環を指してもよい。代表的なシクロアルキルとして、限定はされないが、3~15個の炭素原子、3~10個の炭素原子、3~8個の炭素原子、3~6個の炭素原子、3~5個の炭素原子、又は3~4個の炭素原子を有するシクロアルキルが挙げられる。単環式シクロアルキル基は、例えば、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、及びシクロオクチルを含む。多環式基は、例えば、アダマンチル、ノルボルニル、デカリニル、及び7,7-ジメチル-ビシクロ[2.2.1]ヘプタニルを含む。

30

【0096】

【00115】「融合された」は、既存の環構造に融合された、本明細書に記載の任意の環構造を指す。融合環がヘテロシクリル環又はヘテロアリール環であるとき、融合ヘテロシクリル環又は融合ヘテロアリール環の一部になる既存の環構造上の任意の炭素原子は、窒素原子で置換されてもよい。

40

【0097】

【00116】「ハロ」又は「ハロゲン」は、ブロモ、クロロ、フルオロ又はヨードを指してもよい。

【0098】

【00117】「ハロアルキル」は、上の定義のような1つ以上のハロ基で置換された、上の定義のようなアルキル基、例えば、トリフルオロメチル、ジフルオロメチル、フルオロメチル、トリクロロメチル、2,2,2-トリフルオロエチル、1,2-ジフルオロエチル、3-ブロモ-2-フルオロプロピル、1,2-ジブロモエチルなどを指してもよい

50

。

【0099】

【00118】 「ヘテロシクリル」又は「複素環式環」又は「ヘテロシクロアルキル」は、2～13個の炭素原子、並びに窒素、酸素、及び硫黄からなる群から選択される1～6個のヘテロ原子を含む、安定な3～14員の非芳香環基を指してもよい。本明細書中で具体的な特段の記載がない限り、ヘテロシクリル基は、融合又は架橋環系を含んでもよい、単環式、又は二環式環系であってもよく；ヘテロシクリル基における窒素、炭素又は硫黄原子は、任意選択的には酸化されてもよく；窒素原子は、任意選択的には四級化されてもよく；またヘテロシクリル基は、部分的又は完全に飽和されてもよい。

【0100】

1つ以上の薬剤の送達又は投与

【00119】 本開示は、本明細書に記載の1つ以上の薬剤の送達又は投与のための方法及び組成物を提供する。1つ以上の薬剤は、対象に（例えばインビボで）、又は対象からの細胞若しくは細胞の集団に（例えばエクスピボ又はインビボで）送達されてもよい。いくつかの場合、1つ以上の薬剤は、1つ以上の送達小胞、例えばナノ粒子で対象に送達されてもよい。ナノ粒子は、任意の好適なナノ粒子であってもよく、固体、半固体、半液体又はゲルであってもよい。ナノ粒子は、親油性及び両親媒性粒子であってもよい。例えば、ナノ粒子は、ミセル、リポソーム、エキソソーム、又は他の脂質含有小胞を含んでもよい。いくつかの場合、ナノ粒子は、特定の細胞又は細胞型（例えばがん細胞）への標的化送達を意図して設計されてもよい。かかる場合、ナノ粒子は、特定の細胞又は細胞型（例えばがん細胞）に特異的に結合してもよい、任意の数のリガンド、例えば、抗体、核酸分子（例えば、リボ核酸（RNA）分子又はデオキシリボ核酸（DNA）分子）、タンパク質、ペプチドで装飾されてもよい。

【0101】

【00120】 1つ以上の薬剤は、ウイルス手法を用いて送達されてもよい。例えば、1つ以上の薬剤は、ウイルスベクターを用いて投与されてもよい。かかる場合、1つ以上の薬剤は、細胞、細胞の集団、又は対象への送達のため、ウイルスに封入されてもよい。ウイルスは、アデノ随伴ウイルス（AAV）、レトロウイルス、レンチウイルス、単純ヘルペスウイルス、又は他の有用なウイルスであり得る。ウイルスは、改変されてもよく、又は天然に存在するものであってもよい。

【0102】

【00121】 1つ以上の薬剤は、単一又は種々の手法を用いて、対象（例えばヒト患者）又は対象の身体（例えば腫瘍部位）に送達されてもよい。例えば、1つ以上の薬剤は、経口的に、静脈内に、腹腔内に、腫瘍内に、皮下に、局所的に、経皮的に、経粘膜的に、又は別の投与手法を通じて、送達又は投与されてもよい。

【0103】

【00122】 1つ以上の薬剤は、経腸的に対象に送達されてもよい。例えば、1つ以上の薬剤は、経口的に、直腸的に、舌下に、唇下に、口腔内に、局所的に、又は浣腸を通じて対象に投与されてもよい。かかる場合、1つ以上の薬剤は、錠剤、カプセル剤、ドロップ剤又は他の剤形に製剤化されてもよい。製剤は、経腸的に送達されるように設計されてもよい。

【0104】

【00123】 1つ以上の薬剤は、非経口的に対象に送達されてもよい。例えば、1つ以上の薬剤は、対象のある位置への注射を介して投与されてもよい。位置は、中枢神経系を含んでもよく、1つ以上の薬剤は、例えば、硬膜外に、脳内に、脳室内に送達されてもよい。位置は、皮膚を含んでもよく、1つ以上の薬剤は、皮膚上に送達されてもよい。例えば、1つ以上の薬剤は、1つ以上の薬剤を対象の皮膚に送達し得る、経皮吸収型貼付剤で製剤化されてもよい。1つ以上の薬剤は、舌下及び／又は頬側に、羊膜外に、経鼻的に、動脈内に、関節内に、空洞内に、心臓内に、皮内に、病変内に、筋肉内に、眼球内に、骨内に、腹腔内に、くも膜下腔内に、子宮内に、腔内に、静脈内に、膀胱内に、硝子体内に

10

20

30

40

50

、皮下に、経皮的に、血管周囲に、経粘膜的に、又は別の投与経路を通じて送達されてもよい。いくつかの場合、1つ以上の薬剤は、局所的に送達されてもよい。

【0105】

【00124】 1つ以上の薬剤は、エアロゾル剤、丸剤、錠剤、カプセル剤（例えば、非対称膜カプセル）、トローチ剤、エリキシル剤、エマルジョン剤、散剤、溶液、懸濁剤、チンキ剤、液体、ゲル剤、乾燥粉末、蒸気剤、液滴剤、軟膏剤、パッチ剤、又はそれらの組み合わせに製剤化されてもよい。例えば、1つ以上の薬剤は、ゲル剤又はポリマー剤に製剤化され、薄膜を介して送達されてもよい。

【0106】

【00125】 いくつかの場合、1つ以上の薬剤は、標的化送達手法（例えば、腫瘍部位への標的化送達の場合）を用いて、又は1つ以上の薬剤の細胞への取り込みを増強するための送達手法を用いて、対象に送達されてもよい。送達手法は、磁気薬物送達（例えば、磁気ナノ粒子ベースの薬物送達）、超音波による標的化薬物送達手法、自己マイクロ乳化学薬物送達システム、又は他の送達手法を含んでもよい。いくつかの場合、1つ以上の薬剤は、標的化送達又は細胞への取り込みの増強を意図して製剤化されてもよい。例えば、1つ以上の薬剤は、1つ以上の薬剤の溶解度、疎水性、親水性、吸収性、半減期、バイオアベイラビリティ、放出特性、又は他の特性を改善することがある別の薬剤を用いて製剤化されてもよい。例えば、1つ以上の薬剤は、1つ以上の薬剤の放出特性を制御することがあるポリマーを用いて製剤化されてもよい。1つ以上の薬剤は、1つ以上の薬剤の特性（例えば、バイオアベイラビリティ、薬物動態など）を変更するため、コーティングとして、又はコーティング（例えば、ウシ顎下ムチンコーティング、ポリマーコーティングなど）を用いて製剤化されてもよい。

【0107】

いくつかの場合、1つ以上の薬剤は、レトロメタボリックドラッグデザインを用いて製剤化されてもよい。かかる場合、1つ以上の薬剤は、細胞内での代謝効果について評価されてもよく、誘導体（例えば、化学合成された代替物又は改変変異体）を含む新しい製剤は、1つ以上の薬剤の特性を変化させる（例えば、有効性を増加させる、望ましくない副作用を最小化する、バイオアベイラビリティを変更する）ように設計されてもよい。

【実施例】

【0108】

実施例

実施例1 トリプルネガティブ乳がんにおける合成致死ペアとしてのSRC-YES

【00126】 標的化薬剤の組み合わせがトリプルネガティブ乳がんの殺滅に有効なことがあるか否かを判定するため、有望な合成致死性遺伝子対標的が、遺伝子ノックダウン又はノックアウトスクリーンを用いて（例えば、図1に表すワークフローを用いて）最初に同定可能である。初期スクリーンは、チロシンキナーゼ遺伝子の全ての可能なペアの活性を除去する薬剤を組み合わせることにより実施する。そこで、各チロシンキナーゼ遺伝子対は、ペアにおける両方の遺伝子のノックダウン又はノックアウトの組み合わせが、細胞殺滅時、個別遺伝子の別個のノックダウンの数値的に相加的な効果よりも統計学的に有意に有効であるか否かに基づき、遺伝子相互作用スコアを指定できる。CRISPR/Cas9遺伝子操作による遺伝子調節のそれぞれ又は組み合わせの影響を検証するためにCombiGEM技術（Wong AS, Choi GC, Cui CH, et al. “Multiplexed barcoded CRISPR-Cas9 screening enabled by CombiGEM.” Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2016;113:2544-90、参照により本明細書中に援用される）が使用可能である。いくつかの場合、CombiGEM技術は、合成致死をもたらすことがある遺伝子のセット（例えば、遺伝子対、遺伝子トリプレット、遺伝子クアドラプレット（gene quadruplets）など）を決定するため、1つ以上の細胞型においてハイスループットフォーマットで使用可能である。チロシンキナーゼ遺伝子を標的にする、1ワイズ及び2ワイズのコンビナトリアルな遺伝子摂動ライブラリーを使用してもよい。

【0109】

【00127】 次に、各遺伝子対の遺伝子相互作用スコアは、式：

$$GI_{AB} = Z_{obs} - Z_{exp} = Z_{AB} - (Z_A + Z_B)$$

(式中、Aは遺伝子A(第1のチロシンキナーゼ)を指し、Bは遺伝子B(第2のチロシンキナーゼ)を指し、 Z_{obs} は観察された表現型であり、 Z_{exp} は推定された表現型であり、 Z_{AB} は観察された表現型である)を用いて計算可能である。かかる場合、 Z_{AB} は、二重sgRNA(即ち、遺伝子A及び遺伝子Bノックアウトの場合)の数の、0日目に対する20日目の平均対数倍変化として計算される。 Z_{exp} は、 Z_A と Z_B の和であり、遺伝子A及び遺伝子Bをそれぞれ標的にするsgRNAの数の、0日目に対する20日目の平均対数倍変化と定義される。次に、遺伝子相互作用スコアは、修正された遺伝子相互作用スコアの規模によってランク付けしてもよい。ランク付けされた遺伝子対を表1に列記する。

10

【0110】

【00128】 遺伝子対が合成致死な場合があるか否かを判定するため、最上位にランク付けされた遺伝子対にさらなるスクリーニングを施してもよい。例えば、SRC-YES遺伝子対の合成致死については、さらなる細胞株及び遺伝子機能ノックダウン(例えば、siRNA又は小分子)の代替的方法を用いて試験してもよい。スクリーニングの場合、一手法では、SRC及びYES遺伝子に対し、コンビナトリアルな遺伝子CRISPR手法を用いて、細胞のゲノムのノックダウン又はノックアウトを行ってもよい。かかる例では、DNA構築物を作製してもよい。DNA構築物は、エンドヌクレアーゼ(例えばCasタンパク質)をSRC遺伝子に導くためのSrc gRNAとともに、エンドヌクレアーゼ(例えばCasタンパク質)をYES遺伝子に導くためのYes gRNAを含んでもよい。Src gRNA及びYes gRNAは、内因性SRC遺伝子又はYES遺伝子上の配列に対して相同的又は相補的な配列をそれぞれ含んでもよい。いくつかの場合、DNA構築物はまた、ゲノム内にSRC及びYESを置換するための置換遺伝子(例えば、機能不全配列(dysfunctional sequence)、ランダムDNA配列)を含んでもよい。

20

【0111】

【00129】 さらに、対照DNA構築物を作製してもよい。例えば、遺伝子対が合成致死か否かを判定するため、遺伝子対の各メンバー、及び遺伝子対の組み合わせを破壊する効果を監視することが重要なことがある。さらに、陰性対照の効果を監視することが重要なことがあり、ここでは無効なgRNA、例えば「非切断」対照としての非特異的gRNAを含むDNA構築物を構築してもよい。さらに、置換遺伝子がDNA構築物中に存在する場合の順序が細胞に対する効果に影響するか否かを判定するため、SRC-YES配列を含むDNA構築物をYES-SRC配列を含むものと比較してもよい。

30

【0112】

【00130】 次に、DNA構築物は、エンドヌクレアーゼ、例えばCas9によって、がん細胞(例えば、MDA-MB-231細胞)に導入してもよい。次に、Cas9により、処理細胞におけるSRC及びYES遺伝子を置換、編集、又は欠失してもよく、いくつかの場合、ゲノム内のSRC及びYES遺伝子をDNA構築物中の置換遺伝子と置換してもよい。次に、処理の有効性を判定するため、細胞の増殖又は生存率を経時的に監視してもよい。細胞の生存率は、処理されない細胞の対照集団に対して正規化又は比較してもよい。

40

【0113】

【00131】 図2A~2Bは、SRC及びYESをノックアウト又はノックダウンするためのComb i GEM手法のデータ例を示す。図2Aは、細胞生存率の、導入されるDNA構築物の関数としてのバプロットを図示する。FCは、対照に対する倍数変化を表す。LFCは、対数倍変化を表す。A、B、C及びDは、生物学的複製である。パネル201では、MDA-MD-231細胞を、SRC及びYESの機能コピーを含んでもよい、又はそれ以外では細胞におけるSRC及びYES遺伝子に影響しない(例えばノックア

50

ウトする)ように設計されてもよい、陰性対照(NTC)DNA構築物で処理する。パネル201では、正規化された細胞生存率が陰性対照構築物の影響を受けないことを認めることができる。パネル203では、MDA-MD-231細胞を、遺伝子対の一方のメンバーのみ(SRC又はYES)をノックアウトするように設計されたDNA構築物で処理する。試験されるDNA構築物は、対照及びノックアウト配列が細胞生存率に影響する場合の順序について判定するためにも使用されてもよい、SRC-陰性対照、陰性対照-SRC、YES-陰性対照、及び陰性対照-YESを含み得る。パネル203では、細胞の生存率が減少され得ることを認めることができ、YESノックダウン又はSRCノックダウンが細胞生存率を個別に低減し得ることが示される。さらに、個別の遺伝子が構築物上に存在する場合の順序は、単一ノックダウンの効果に影響しない。パネル205では、MDA-MD-231細胞を、SRC及びYESの双方をノックアウトするように設計されたDNA構築物で処理する。細胞の生存率が、203における単一遺伝子ノックダウン及び201における陰性対照と比較して劇的に低減されることを認めることができる。

10

20

30

40

50

【0114】

【00132】 図2Bは、SRC及びYESをノックダウン又はノックアウトするようにDNA構築物で処理された細胞の生存率のバイオリンプロットを図示する。DNA構築物は、例えばSRC及びYESの内因性コピーを非機能的にするため、SRC及びYES遺伝子置換を含み得る。SRC及びYESのノックダウンは、細胞生存率の減少をもたらす、実質的な遺伝子相互作用($GI < -1.5$)を示すことができ、DNA構築物上に遺伝子がいずれの順序で存在するかの結果としての生存率の差は、有意でなくてもよい($p = 0.29$)。

【0115】

【00133】 DNA構築物が正確に設計され、それらがSRC及びYES遺伝子の遺伝子発現又は活性を確かに阻害することを検証するため、DNA分析又はタンパク質アッセイを実施してもよい。例えば、DNA構築物を導入し、細胞内のSRC及びYES遺伝子をノックアウト又はノックダウンしてから、Src及びYesタンパク質が細胞の陰性対照集団よりも低いレベルで発現されることを確認するため、ウェスタンブロット又は他のイムノアッセイを使用してもよい。

【0116】

【00134】 図3は、がん(例えば、MBA-MD-231)細胞におけるSRC及びYESをノックアウト又はノックダウンするためのComb i GEM手法のさらなるデータ例を示す。図3は、(i)陰性対照(NTC)配列、(ii)必須遺伝子に対する陽性対照としてのポリメラーゼ(POLR2D)配列、(iii)SRCガイドRNA(ノックダウン又はノックアウトのため)、(iv)YESガイドRNA(ノックダウン又はノックアウトのため)、又は(v)それらの組み合わせを含む種々のDNA構築物で処理された細胞の正規化生存率のバープロットを示す。陽性対照配列は、内因性POLR2D遺伝子を置換するための機能不全RNAポリメラーゼ遺伝子(例えばPOLR2D遺伝子)を含むDNA構築物であり得る、又はDNA構築物は、ポリメラーゼ遺伝子をノックダウン若しくはノックアウトするように設計されてもよい。陽性対照配列は、例えば、DNA構築物が予想とおりに機能する、例えば、DNA複製、ひいては細胞増殖に必須である遺伝子のノックアウトが細胞生存率の減少をもたらすことを判定するため、使用してもよい。

【0117】

【00135】 処理細胞の生存率は、陰性対照(例えば、非処理細胞、又はスクランブルgRNAを含むか若しくはSRC及びYESの正常コピーを含むDNA構築物で処理した細胞)に対して正規化することができる。図3からわかるように、細胞の陰性対照群は、1の正規化生存率を有する。陽性対照(POLR2D)は、ポリメラーゼをノックアウトするためのDNA構築物で細胞を処理する場合、予想どおり、正規化生存率の劇的な減少をもたらす。左からのバー3~8では、SRC(バー3~5)又はYES(バー6~8)のいずれかの単一遺伝子ノックアウトにより細胞を処理する。「DM1」及び「DM2」

という用語は、命名目的で使用する。SRC又はYESのノックアウトは、正規化生存率の減少をもたらす。左からのバー9～17では、細胞を二重遺伝子ノックアウト（SRC及びYES）により処理し、単一ノックアウト及び陰性対照よりもはるかに低い生存率をもたらす。エラーバーは、標準偏差、 $n = 3$ を表す。

【0118】

【00136】 図4は、がん細胞内のSRC及びYESをノックダウンするためのRNA手法のさらなるデータ例を示す。SRC及びYESの発現又は活性を低減するための直交的手法を用いて、Comb i GEM手法の結果（例えば図3）を検証可能である。細胞（例えば、MBA-MD-231細胞）をsiRNAで処理し、SRC、YES、又は両方をノックダウンしてもよい。使用されるsiRNAの濃度は、任意の好適な濃度（例えば2.5 nM）であり得る。処理後、細胞は、さらなる期間（例えば1週）にわたり培養してもよい。次に、細胞生存率は、陰性対照（例えば、スクランブルsiRNAで処理した細胞）に対して比較又は正規化してもよい。図4は、細胞生存率のバープロットを、処理群（陰性対照又は非処理（例えば、RNA処理なし、スクランブルsiRNA処理）、siSRC処理、siYES処理、又はsiPOLR2D）の関数として示す。（SRCを阻害するため）siSRCで処理した細胞及び（YESを阻害するため）siYESで処理した細胞は、有意に減少した生存率を有しない。しかし、siSRC及びsiYESの双方で処理した細胞は、siSRC又はsiYES単独と比較し、有意により低い生存率を有し、生存率の減少に対する相乗効果を明示する。陽性対照は、siPOLR2D（RNAポリメラーゼIIのノックダウン）である。

10

20

【0119】

【00137】 図5は、がん細胞内のSRC及びYESを阻害するための小分子手法のさらなるデータ例を示す。Comb i GEM結果（Cas及びDNA構築物を用いた二重SRC及びYESノックアウト）を検証するためのさらなる手法は、SRC又はYESの機能を低下させるための小分子阻害剤を使用することを含み得る。図5は、MDA-MB-231細胞生存率の、SU-6656（YES阻害剤）の濃度の関数としてのプロットを示す。細胞の1群を、専らYES阻害剤及び溶媒対照（DMSO単独）で処理する。細胞の2つの群を、500 nM又は1 μ Mの濃度のSRC阻害剤ダサチニブと同時処理する。対照群（DMSO単独、ダサチニブなし）は、68.6 μ Mの濃度のSU-6656で、500 nMのダサチニブと同時処理した細胞における20.4 μ M及び1 μ Mのダサチニブと同時処理した細胞における12.7 μ Mと比較して、50%の生存率を有する。これらの結果は、Yes阻害剤による処理が細胞をSRC阻害剤に感作させることを示す。これらの結果は、SRC及びYESの二重阻害が、単一阻害又はSRC若しくはYESと比較して、細胞に対して致死性であり得ることを示唆し得る。

30

【0120】

【00138】 図6は、YES及びSRCにおけるシグナル伝達経路のサブセットを模式的に図示する。図からわかるように、YES及びSRCによって制御される下流遺伝子及び／又はタンパク質の間に有意な収束が認められる。例えば、YES及びSRCは、STAT3、TIM（DNA複製に関与）、及びYAP1（Hippo経路に関与）を活性化し得る。YES及びSRCは、いくつかの受容体、例えば、VGFR-1、EGFR、PTPR- ϵ 、IL-11受容体、PDGF受容体、ITGB1、及びFGFR1によって制御されてもよい。これらの受容体はまた、いくつかの遺伝子及び／又はタンパク質、例えば、FAK1、FAM120A、mgp130、及びCDK1（p34）を調節することがある。これらの一部は、そこでSRC及びYESの発現又は活性を活性化することがある一方で、これらの一部は、そこでSRC及びYESの発現又は活性を阻害することがある。さらに、これらの一部は、そこでYAP1、STAT3及びTIMの活性の発現を活性化することがある一方で、一部は、そこでYAP1、STAT3及びTIMの発現又は活性を阻害することがある。YESはまた、カドヘリン誘導性のシグナル伝達及びPI3k経路（例えば、p85の活性化を介する）に関与することがある。SRC及びYESは、カドヘリンシグナル伝達も制御し得る、TRPV4シグナル伝達に関与することがあ

40

50

る。マイクロRNAのmiR-203-3p及びmiR-205-5pの双方は、SRC及びYESの発現を阻害することがある。さらに、miR-203-2pは、TRPV4の発現を阻害することがあり、miR-205-5pは、YAP1の発現を阻害することがある。miR-203-3pとmiR-205-5pの双方は、カドヘリン誘導性のシグナル伝達に関与することがある。図7は、YES又はSRCによって制御されるいくつかの遺伝子の表を示す。図7に示すとおり、YES1によって制御される13の遺伝子の内、それら遺伝子の9つがSRCによっても制御される。YES及びSRCはまた、複数のがん関連プロセスにおける重要な制御因子である。図8は、異なる腫瘍タイプにおけるSRC又はYES1の異常、例えば突然変異又は欠失の例についての表を図示する。SRC及びYES1は、同じ腫瘍細胞内で同時に突然変異を受ける可能性が統計学的に有意により高い($p < 0.001$)。図9は、乳がんにおけるSRC及びYES1の発現についての表を図示する。SRC及びYES1は、乳がん腫瘍において高度に同時発現される可能性がより高い($p < 0.001$)。

10

20

30

40

50

【0121】

【00139】 図10は、細胞のYES及びSRC阻害剤に対する感受性のデータ例を示す。バープロットは、無関係の／対照キナーゼWEE1に対する阻害剤とともに、細胞の阻害に対する感受性に対する、様々なSRC阻害剤、YES阻害剤、又は二重SRC／YES阻害剤の効果を示す。各バーは、SRC、YES、SRC及びYES、又はWEE1を阻害することがある、異なるタイプの阻害剤を表す。プロットの左からのバー1～2は、SRC及びYESの双方が阻害されるとき、細胞の阻害に対する感受性が最も高いことを示す。プロットの左からのバー3～6は、SRC阻害剤で処理された細胞における阻害に対する感受性を示す。プロットの左からのバー7は、WEE1阻害剤で処理された細胞における阻害に対する感受性を示す。さらに、プロットの左からのバー8～18は、SRC阻害剤で処理された細胞における阻害に対する感受性を示す。プロットの左からのバー9は、YES1阻害剤で処理された細胞における阻害に対する感受性を示す。プロットの左からのバー10は、WEE1阻害剤で処理された細胞における阻害に対する感受性を示す。SRC及びYES二重阻害において、SRC単独阻害又はYES単独阻害と比較し、阻害に対する感受性の増加が認められる。図10では、506の細胞株を、ダサチニブ（SRC及びYES阻害剤）に対する感受性について比較する。506中119の細胞株が、MDA-MB-231細胞よりもダサチニブに対して感受性である。ダサチニブに対して感受性である細胞株は、一般に、より選択的なYES阻害剤又はSRC阻害剤に対する感受性がより低い。ダサチニブに対して感受性である細胞株は、YES及びSRCの他の二重阻害剤に対する感受性がより高い。

【0122】

【00140】 まとめると、図2～10に表されるデータは、SRC-YESが合成致死ペアであることを示唆する。SRC及びYESが類似するがん経路に関与することから、SRC及びYESは、腫瘍溶解性プロセスにおいて冗長な機能を有することがある。さらに、SRC及びYESは、一般に、腫瘍細胞内で同時発現され、突然変異を受けることがより多い。感受性細胞において、二重SRC-YES阻害は、細胞の殺滅時、YES単独又はSRC単独阻害よりも有効であり得る。したがって、二重特異性阻害剤、又は単一特異性（例えば、YES単独又はSRC単独）薬剤の組み合わせは、がん細胞の殺滅時、特に有効なことがある。

【0123】

実施例2—トリプルネガティブ乳がんにおける合成致死ペアとしてのSRC-RON

【00141】 実施例1に記載のとおり、遺伝子相互作用スクリーンからの最上位の遺伝子対は、遺伝子対が合成致死性である場合があるか否かを判定するため、さらなるスクリーニングを受けてもよい。例えば、SRC-RON（RONがMST1Rとも称される場合）遺伝子対は、合成致死性について試験してもよい。一手法では、SRC及びRON遺伝子に対し、CRISPRベースの手法を用いて、細胞のゲノムのノックダウン又はノックアウトを行ってもよい。かかる例では、DNA構築物を作製してもよい。DNA構築物

は、エンドヌクレアーゼ（例えば Cas タンパク質）を SRC 遺伝子に導くための Src gRNA、及びエンドヌクレアーゼ（例えば Cas タンパク質）を RON 遺伝子に導くための RON gRNA を含んでもよい。Src gRNA 及び RON gRNA はそれぞれ、内因性 SRC 遺伝子又は RON 遺伝子上の配列に対して相長的又は相補的な配列を含んでもよい。いくつかの場合、DNA 構築物はまた、ゲノム内の SRC 及び RON を置換するための置換遺伝子（例えば、機能不全配列、ランダム DNA 配列）を含んでもよい。

【0124】

【00142】さらに、対照 DNA 構築物を作製してもよい。例えば、遺伝子対が合成致死性であるか否かを判定するため、遺伝子対の各メンバー、及び遺伝子対の組み合わせを破壊する効果を監視することが重要なことがある。さらに、無効な gRNA（例えば、「非切断」対照としての非特異的 gRNA）、（最小の変化を及ぼすための）SRC 及び RON 遺伝子の正常コピー、又はそれらの組み合わせを含む DNA 構築物を構築してもよい場合、陰性対照の効果を監視することが重要なことがある。さらに、置換遺伝子が DNA 構築物中に存在する場合の順序が細胞に対する効果に影響するか否かを判定するため、SRC-RON 配列を含む DNA 構築物を RON-SRC 配列を含むものと比較してもよい。

10

【0125】

【00143】次に、DNA 構築物を、エンドヌクレアーゼ、例えば Cas 9 を用いて、がん細胞（例えば、MDA-MB-231 細胞）に導入してもよい。次に、Cas 9 により、処理細胞における SRC 及び RON 遺伝子を置換、編集、又は欠失してもよく、いくつかの場合、ゲノム内の SRC 及び RON 遺伝子を DNA 構築物中の置換遺伝子と置換してもよい。次に、処理の有効性を判定するため、細胞の増殖又は生存率を経時的に監視してもよい。細胞の生存率は、細胞の対照集団、例えば、処理されない細胞又はスクランブル gRNA で処理された細胞、又は専ら溶媒対照で処理された細胞に対して正規化又は比較してもよい。

20

【0126】

【00144】図 11A～11B は、SRC 及び RON（「MST1R」として図示）をノックアウト又はノックダウンするための Comb i GEM 手法のデータ例を示す。図 11A は、細胞生存率の、導入される DNA 構築物の関数としてのバースプロットを図示する。FC は、対照に対する倍数変化を表す。LFC は、対数倍変化を表す。A、B、C 及び D は、生物学的複製である。パネル 1101 では、MDA-MD-231 細胞を、SRC 及び RON の機能コピーを含んでもよい、又はそれ以外では細胞における SRC 及び RON 遺伝子に影響しない（例えばノックアウトする）ように設計されてもよい、陰性対照（Neg Con）DNA 構築物で処理する。パネル 1101 では、正規化された細胞生存率が陰性対照構築物の影響を受けないことを認めることができる。パネル 1103 では、MDA-MD-231 細胞を、遺伝子対の一方のメンバーのみ（SRC 又は RON）をノックアウトするように設計された DNA 構築物で処理する。試験される DNA 構築物は、対照及びノックアウト配列が細胞生存率に影響する場合の順序について判定するためにも使用されてもよい、SRC-陰性対照、陰性対照-SRC、RON-陰性対照、及び陰性対照-RON を含み得る。パネル 1103 では、細胞の生存率が減少され得ることを認めることができ、RON ノックダウン又は SRC ノックダウンが細胞生存率を個別に低減し得ることが示される。さらに、個別の遺伝子が構築物上に存在する場合の順序は、細胞生存率に対する単一ノックダウンの効果に影響しない。パネル 1105 では、MDA-MD-231 細胞を、SRC 及び RON の双方をノックアウトするように設計された DNA 構築物で処理する。細胞の生存率が、1103 における単一遺伝子ノックダウン及び 1101 における陰性対照と比較して劇的に低減されることを認めることができる。

30

40

【0127】

【00145】図 11B は、SRC 及び RON をノックダウン又はノックアウトするように DNA 構築物で処理された細胞の生存率のバイオリンプロットを図示する。DNA 構築物は、例えば SRC 及び RON の内因性コピーを非機能的にするため、SRC 及び RON

50

遺伝子置換を含み得る。SRC及びRONのノックダウンは、細胞生存率の減少をもたらす可能性があり、DNA構築物上に遺伝子がいずれの順序で存在するかの結果としての生存率の差は、有意でなくてもよい ($p = 0.22$)。

【0128】

【00146】 DNA構築物が正確に設計され、それらがSRC及びRON遺伝子の遺伝子発現又は活性を確かに阻害することを検証するため、タンパク質アッセイを実施してもよい。例えば、DNA構築物を導入し、細胞内のSRC及びRON遺伝子をノックアウト又はノックダウンしてから、Src及びRONタンパク質が細胞の陰性対照集団よりも低いレベルで発現されることを確認するため、ウェスタンブロット又は他のイムノアッセイを使用してもよい。

【0129】

【00147】 図12A～12Cは、がん細胞内のSRC及びRONを阻害するための小分子手法のさらなるデータ例を示す。本明細書に記載のとおり、Comb i GEM結果 (Cas及びDNA構築物を用いた二重SRC及びRONノックアウト) を検証するための一手法は、SRC又はRONの機能を低下させるための小分子阻害剤を使用することを含み得る。図12Aは、N-[4-[(2-アミノ-3-クロロ-4-ピリジニル)オキシ]-3-フルオロフェニル]-4-エトキシ-1-(4-フルオロフェニル)-2-オキソ-3-ピリジンカルボキサミド (BMS777607、RON阻害剤) による処理の関数として、又はBMS777607をダサチニブ (SRC阻害剤) と同時投与するときの、細胞のIC₅₀ (GI₅₀) のプロットを示す。5つの細胞株タイプを表示する。全ての試験される細胞株において、RON阻害剤における効力 (より低いGI₅₀) は、ダサチニブの存在下で、その不在下 (DMSO) よりも高い。図12B及び図12Cはそれぞれ、ダサチニブと同時投与された、RON阻害剤フォレチニブ又はMet/Ron阻害剤による処理の関数としてのGI₅₀のプロットを示す。全ての試験した細胞株において、RON阻害剤における効力 (より低いGI₅₀) は、ダサチニブの存在下で、その不在下 (DMSO) よりも高い。まとめると、これらの結果は、RON阻害剤による処理が細胞をSRC阻害剤に感作させ得ることを示す。これらの結果はまた、SRC及びRONの二重阻害が、SRC又はRONの単一阻害と比較して、細胞に対して致死性であり得ることを示唆する。それはまた、その効果が専ら1つの細胞型に限定されない、即ちこの効果には良好な浸透度があることを示す。

【0130】

【00148】 図13は、RON (MST1R) 及びSRCにおけるシグナル伝達経路のサブセットを模式的に図示する。図からわかるように、RON及びSRCによって制御される下流遺伝子の間に収束が認められる。両方の遺伝子は、大部分のがんサンプル中で発現され、複数の遺伝子がSRC及びRONによって制御される。図14は、p85におけるシグナル伝達経路 (PI3K経路) のサブセットを模式的に示し、RON及びSRCが相互作用することを示す。SRCの上流のMET及びRONは、グレサチニブを用いて阻害されることがある。

【0131】

【00149】 図15Aは、様々ながんタイプにおけるSRC及びRONの発現の相関係数のプロットを示す。プロットにおける各バーは、あるがんタイプにおけるSRC及びRONの発現のスピアマン相関係数を表す。SRC及びRONは、多数のがんタイプにおいて高度に同時発現される。図15Bは、様々ながんタイプにおけるSRC及びRONの同時活性化のプロットを示す。プロットにおける各バーは、SRCについて活性化されているがんの、それがRONについて活性化される条件でのオッズ比を表す。SRC及びRONは、複数のがんタイプにおいて有意に同時活性化される。

【0132】

【00150】 図16Aは、SRC及びRONにおけるシグナル伝達経路のサブセットを模式的に示す。一部の腫瘍細胞では、RON及びSRCは、活性化され、がん細胞の増殖及び生存を促進する。RONの阻害は、その経路 (例えばPI3K) の一部を遮断するこ

10

20

30

40

50

とがある。しかし、がん細胞の増殖及び生存を促進し続けるSRCを介し、代償性機構が活性である場合がある。図16Bは、SRC及びRONの二重阻害が、腫瘍増殖を抑制し、可能性として腫瘍細胞死を増強するのにいかに有効なことがあるかを模式的に示す。

【0133】

【00151】 図17Aは、正常及びがん組織におけるRON発現対SRC発現のプロットを示す。灰色の点は、正常組織細胞のRON及びSRCの発現レベルを表し、黒色の点は、トリプルネガティブ乳がん細胞内のRON及びSRCの発現レベルを表す。図17Bは、トリプルネガティブ乳がん細胞内のSRC及びRONの発現レベルについての表を示す。「高い」は、正常組織の平均発現レベルを上回る少なくとも2標準偏差である発現レベルに対応する。図17A～Bに図示のとおり、腫瘍細胞内のSRC及びRON発現の陽性相関を認めることができ、二重阻害への可能性が示唆される。さらに、トリプルネガティブ乳がんサンプルの85% (n=192) がSRC及びRONのいずれかの高い発現を有し、18%がSRC及びRON双方の高い発現を有する。

10

【0134】

【00152】 図18は、腫瘍体積の、SRC又はRON阻害剤による処理の関数としてのインビボデータ例を示す。MDA-MB-231腫瘍異種移植片を、マウスに移植し、5つの実験群：溶媒（陰性）対照、10ミリグラム／キログラム (mpk) の濃度のSRC阻害剤（ダサチニブ）、20mpkのRON阻害剤（BMS777607）、SRC阻害剤（10mpk）及びRON阻害剤（20mpk）の組み合わせ、又はSRC阻害剤（10mpk）及びRON阻害剤（50mpk）の組み合わせの1つで処理する。各マウスにおける腫瘍体積を経時的に監視する。観察できるように、SRC単独阻害群又はRON単独阻害群における腫瘍増殖は、溶媒対照と比較してややより低い一方で、SRC阻害剤及びRON阻害剤の組み合わせ治療（20mpk又は50mpkのいずれか）は、腫瘍増殖をそれぞれ42%及び51%だけ阻害する。SRC及びRONの二重阻害の計算された相乗作用は、単一阻害（SRC単独及びRON単独）の添加と比較し、20mpk及び50mpkのRON阻害剤群について、それぞれ13%及び11%である。

20

【0135】

【00153】 まとめると、図11～18に表されるデータは、SRC-RONが合成致死ペアであってもよく、SRC及びRONの二重阻害ががんに対する効果的治療であってもよいことを示唆する。SRC及びRONは、一般に、腫瘍細胞内で同時発現及び活性化される。感受性細胞において、二重SRC-RON阻害は、細胞の殺滅時、RON単独又はSRC単独阻害よりも有効であり得る。したがって、二重特異性阻害剤、又は単一特異性（例えば、RON単独又はSRC単独）薬剤の組み合わせは、がん細胞の殺滅時、特に有効なことがある。

30

【0136】

実施例3-RONを選択的に阻害するための改善された化合物

【00154】 RON及び／又はSRC阻害剤の選択性、特異性、又は効力に対する改善は、例えば、必要とする有効用量をより低くし、又はオフターゲット効果を低減することによって、がん治療を改善することもある。図19は、RON阻害において、ツール化合物1（ENG-007、BMA777607、N-（4-（（2-アミノ-3-クロロピリジン-4-イル）オキシ）-3-フルオロフェニル）-4-エトキシ-1-（4-フルオロフェニル）-2-オキソ-1,2-ジヒドロピリジン-3-カルボキサミド）及びツール化合物2（ENG-008、4-（3-（2-イソプロポキシエトキシ）-1H-インダゾール-5-イル）-2,6-ジメチル-1,4-ジヒドロピリジン-3,5-ジカルボニトリル）よりも高い効力及び選択性を有する化合物（「ENG-015」）のデータ例を示す。プロットは、化合物の対数濃度（モル単位、M）の関数としてのRON又はcMetのパーセント活性を示す。IC₅₀値は、プロットから取得してもよい。例えば、ENG-015の場合、IC₅₀は、RONについて2.8nMであり、cMetについて133nMである。比較すると、ツール化合物1及び2におけるRONについてのIC₅₀値のそれぞれは、8.5及び8600であり、ツール化合物1及び2におけるcM

40

50

ETについてのIC₅₀値のそれぞれは、7.3及び1.8である。cMetを超えるRONに対するツール化合物1及び2の選択性はそれぞれ、cMet IC₅₀/RON IC₅₀による測定として、0.9及び0.0002である。それに対し、ENG-015は、>47であるcMetを超えるRONに対する選択性を有し、ENG-015が、ツール化合物1及び2のいずれかよりも（低いオフターゲットのcMet効果とともに）はるかに優れたRON阻害における選択的化合物であることが示される。ENG-015の化学組成を図20に図示する。

【0137】

【00155】 図20は、RONを阻害する複数の化合物の化学組成を示し、それらの一部は、最小の又は低減されたオフターゲット効果（例えば、cMetに対する低減された効果）を有してもよい。4つの化合物「ENG-009」、「ENG-015」、「ENG-018」及び「ENG-035」を、それらのRon及びcMet阻害活性とともに示す。図20の化合物の一部は、RONの阻害において、図21に示す従来のRON阻害剤と比較して、より高い選択性又は効力を示すことがある。例えば、ENG-015は、cMetについて133~142 nMのIC₃₀、及びRONについて2.8 nMのIC₃₀を有し、治療有効量のENG-015の使用がcMetを阻害することなくRONを阻害し得ることが示される。cMetを越えるRONに対するENG-015の（cMet IC₅₀/RON IC₅₀による判定としての）選択性は、約50倍であり、ENG-015は、高度に強力である（RONを有効に阻害するのに必要とされる濃度は比較的強く、RON IC₅₀は2.8 nMである）。ENG-009及びENG-035は、より低い効力（それぞれ、222~291 nMのRON IC₅₀及び43 nMの解離定数（K_d））を示すが、cMetに対して不活性である（ENG-009）、又はRONに対してcMetよりも約2.3倍選択的である（ENG-035）。ENG-018は、RON及びcMET阻害の双方に対して比較的の不活性である。

10

20

【0138】

【00156】 図21は、RONを阻害する複数の公知の化合物の化学組成を示し、それらの一部は、潜在的なオフターゲット効果（例えば、cMetの交差反応性又は阻害）の増強を示す。cMetについてのIC₃₀は、いくつかの化合物において、かなりより強く、RON阻害がcMet阻害を同様にもたらす可能性が高いことが示される。例えば、ENG-014は、RONに対してcMetよりも選択的でない。それに対し、ENG-013は、（cMet IC₅₀/RON IC₅₀による判定として）RONに対してcMetよりも約10倍選択的であり、強力である（1.6 nMの低いRON IC₅₀）。ENG-012は、比較的強力であり（3.3 nMの低いRON IC₅₀値）、比較的選択的である（RONに対してcMetよりも約3倍選択的である）。

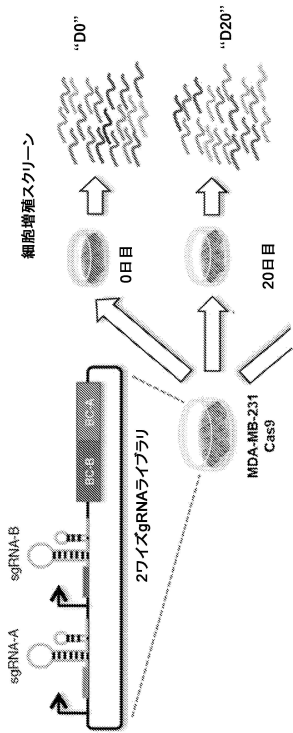
30

【0139】

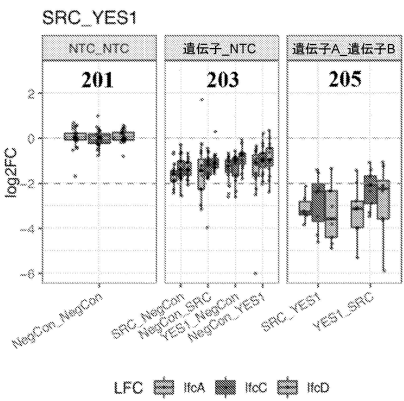
【00157】 本発明の好ましい実施形態が本明細書中に示され、説明されているが、かかる実施形態があくまで例として提供されることは当業者にとって明らかであろう。本発明が本明細書中に提供される具体例によって限定されることは意図されない。本発明は上述された明細書を参照して説明されているが、本明細書中の実施形態の説明及び例示は、限定的意味で解釈されることは意図されない。ここで当業者は、本発明から逸脱することなく、極めて多くのバリエーション、変更、及び置換を行うことであろう。さらに、本発明の全ての態様が、種々の条件及び変数に依存する、本明細書中に示される具体的描写、立体配置又は相対的割合に限定されないことは理解されるものとする。本明細書に記載の本発明の実施形態に対する様々な代替物が、本発明の実施において利用されてもよいことは理解されるべきである。したがって、本発明がいずれかのかかる代替物、修飾、バリエーション又は均等物も網羅することが企図される。以下の特許請求の範囲が本発明の範囲を定義し、これら特許請求の範囲の範囲内の方法及び構造並びにそれらの均等物がそれによって網羅されることが意図される。

40

【図面】
【図 1】



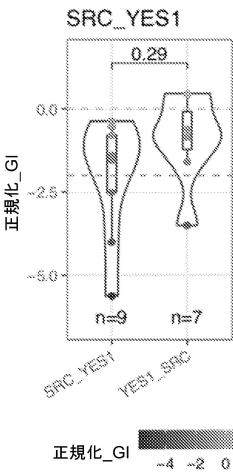
【図 2 A】



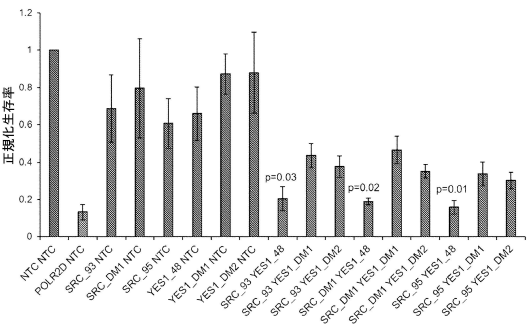
10

20

【図 2 B】



【図 3】

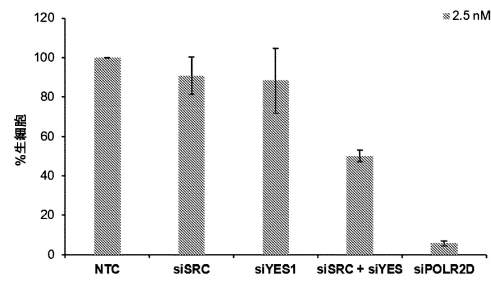


30

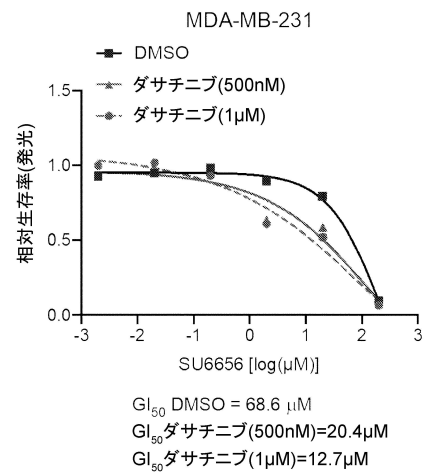
40

50

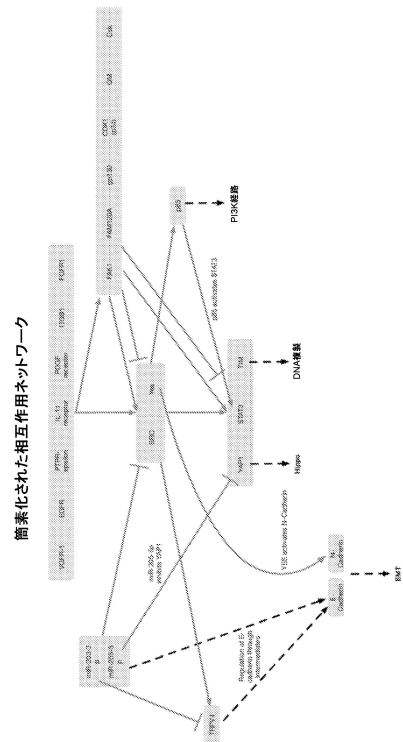
【 図 4 】



【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】

		SRCによる制御		
		有	無	計
YESIによる 制御	有	9	4	13
	無	240	19747	19987
	計	249	19751	20000

10

20

30

40

50

【図 8】

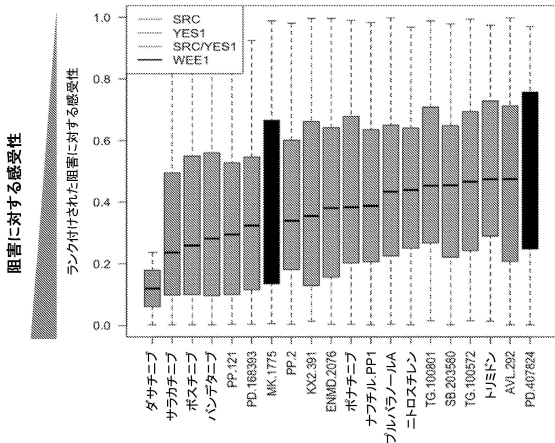
全ての腫瘍タイプ における異常		YES1	
		改変	非改変
SRC	改変	9	96
	非改変	104	4962

【図 9】

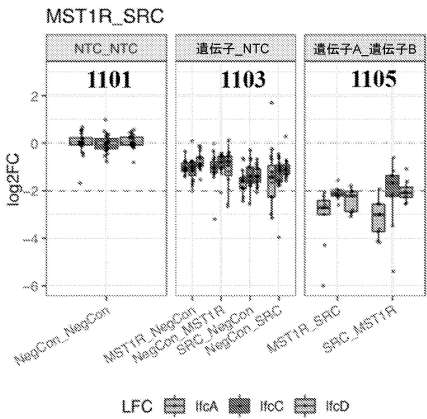
乳がんにおける 発現		YES1	
		高い	平均/低い
SRC	高い	25	97
	平均/低い	81	791

10

【図 1 0】



【図 1 1 A】



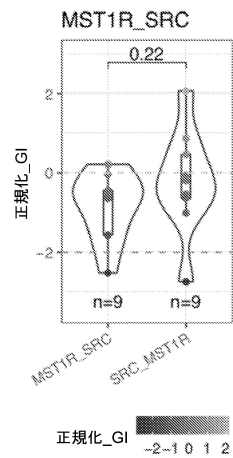
20

30

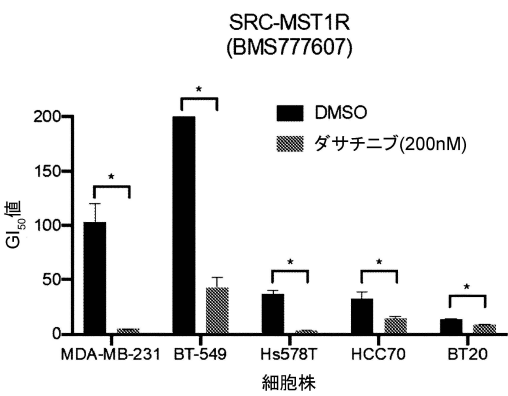
40

50

【図 1 1 B】

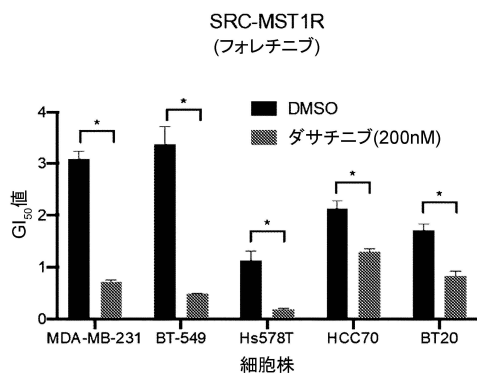


【図 1 2 A】

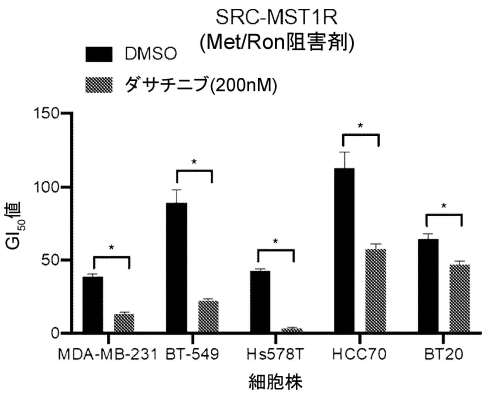


10

【図 1 2 B】



【図 1 2 C】

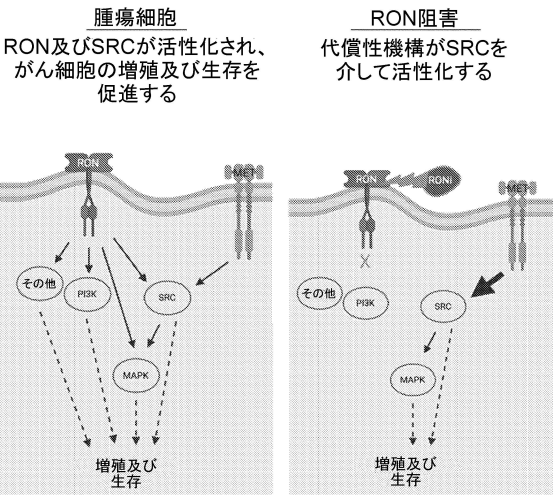


30

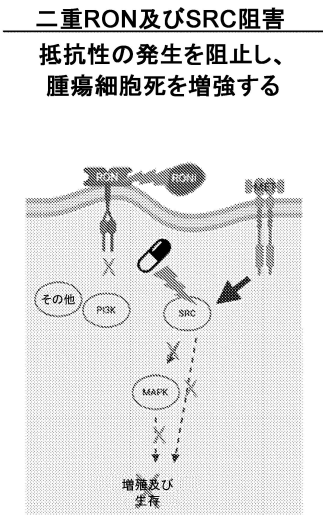
40

50

【図 1 6 A】



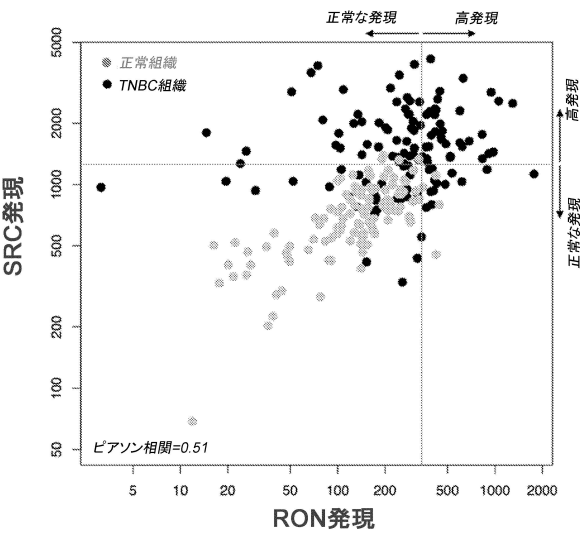
【図 1 6 B】



10

20

【図 1 7 A】



【図 1 7 B】

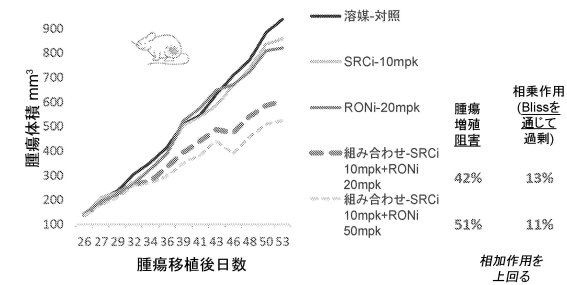
TNBC		RON		
		正常	高い	計
SRC	正常	29 (15%)	48 (25%)	77 (40%)
	高い	80 (42%)	35 (18%)	115 (60%)
	計	109 (57%)	83 (43%)	192 (100%)

30

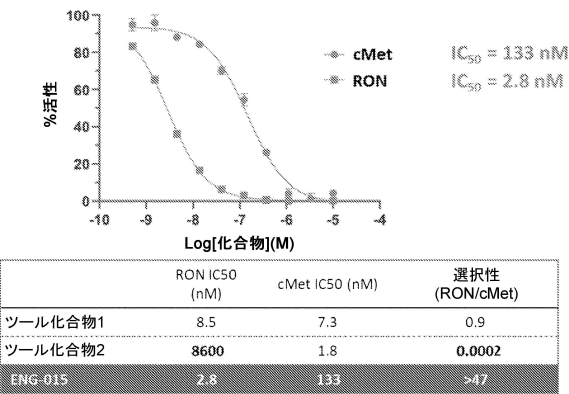
40

50

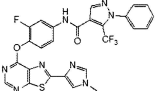
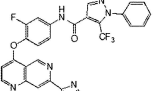
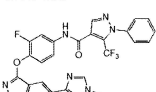
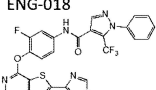
【図 1 8】



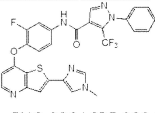
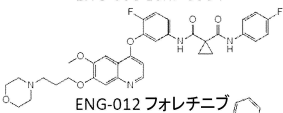
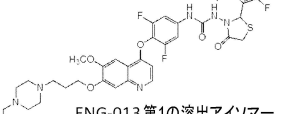
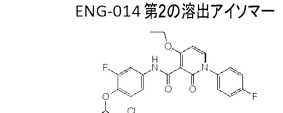
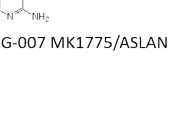
【図 1 9】



【図 2 0】

エンジン	化合物	IC ₅₀ Ron	IC ₅₀ cMet
		222-291 nM	不活性
	ENG-009		
		2.8 nM	133-142 nM
	ENG-015		
		3.5 uM	不活性
	ENG-018		
		43 nM K _d	100 nM K _d
	ENG-035		

【図 2 1】

ツール化合物	IC ₅₀ Ron	IC ₅₀ cMet
	2-3 nM	68-79 nM
ENG-006 LCRF-0004	2.4 nM K _d	5.2 nM K _d
	3.3 nM	9 nM
ENG-012 フォレチニブ		
	1.6 nM	11.5-13 nM
ENG-013 第1の溶出アイソマー		
	8.6-10.5 nM	14-15 nM
ENG-014 第2の溶出アイソマー		
	8.5 nM	6-8 nM
ENG-007 MK1775/ASLAN		

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 20/65335

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 20-21, 27, 52-58
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
(see supplemental page)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-19, 22-26 and 28-43

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 20/65335

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - C12N 15/90; C12N 9/22; C07K 14/705 (2021.01)

CPC - C12Y 301/00; C12N 15/907; C12N 9/22

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2015/0050239 A1 (Xi et al.) 19 February 2015 (19.02.2015); para [0016], [0044]	1-19, 22-26, 28-43
A	WO 2019/014390 A1 (REFUGE BIOTECHNOLOGIES, INC.) 17 January 2019 (17.01.2019); abstract, para [00313]	1-19, 22-26, 28-43
A	WO 2018/236840 A2 (YALE UNIVERSITY) 27 December 2018 (27.12.2018); abstract	1-19, 22-26, 28-43
A	US 2019/0151457 A1 (Dana-Farber Cancer Institute, Inc.) 23 May 2019 (23.05.2019); entire document	1-19, 22-26, 28-43
A	"Pubchem CID 102047363" Create Date: 24 December 2015 (24.12.2015) Date Accessed: 13 May 2021 (13.05.2021); pg. 2	1-19, 22-26, 28-43

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"D" document cited by the applicant in the international application

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 May 2021 (13.05.2021)

Date of mailing of the international search report

MAY 27 2021

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450
Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Lee Young

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 20/65335

—continued from Box No. III—

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I: Claims 1-19, 22-26 and 28-43, directed to a method/composition for treating a subject having or suspected of having a cancer, comprising administering to said subject therapeutically effective amounts of one or more agents that cause a decrease in expression or activity of both members of one or more gene pairs selected from Table 1.

Group II+: Claims 44-51, directed to a compound of claim 44, formula I. The compound of claim 44 may be searched, for example, to the extent that it encompasses the first species of claim 44, represented by a compound according to Formula I wherein ring A is heterocycloalkyl; L1 is a bond; ring B is aryl; X is a bond; ring C is a 5-membered heteroaromatic; L2 is a bond; ring D is aryl; m is 0; n is 0; l is 0; for payment of additional fee and election as such. It is believed that claims 44, 46 and 49 read on this first named invention of Group II+. Applicant is invited to elect additional compounds of claim 44, wherein each additional compound elected will require one additional invention fee. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected compound. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the '+' group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. Another exemplary election would be a compound of claim 44, represented by a compound according to Formula I wherein ring A is aryl; L1 is a bond; ring B is aryl; X is a bond; ring C is a 5-membered heteroaromatic; L2 is a bond; ring D is aryl; m is 0; n is 0; l is 0 (i.e., claims 44-45).

The group of inventions listed above do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features:

Group I includes the technical feature of a method/composition for treating a subject having or suspected of having a cancer, comprising causing a decrease in expression or activity of both members of one or more gene pairs selected from Table 1, which is not required by any other invention of Group II+.

Group II+ includes the technical feature of a unique compound of formula I, which is not required by any other invention of Group I or II+.

Common technical features:

The inventions of Groups II+ share the technical feature of a compound of Formula (I).

The inventions of Groups I and II+ share the technical feature of a compound.

These shared technical features, however, do not provide a contribution over the prior art, as being anticipated by a document entitled "Pubchem CID 102047363" (hereinafter Pubchem-363). Pubchem-363 discloses a compound of formula I wherein ring A is aryl; L1 is a bond; ring B is aryl; X is a bond; ring C is a 5-membered heteroaromatic; L2 is a bond; ring D is aryl; m is 0; n is 0; l is 0 (pg. 2, compound listed).

As said compound was known in the art at the time of the invention, these cannot be considered special technical features that would otherwise unify the inventions of Groups I or II+. The inventions of Group I and II+ thus lack unity under PCT Rule 13.

Note: Claims 20-21, 27, 52-58 have been found to be unsearchable because they are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K 31/444 (2006.01)
A 6 1 K 31/5377 (2006.01)

A 6 1 K 31/444
A 6 1 K 31/5377

,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,D
K,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),O
A(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,B
B,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD
,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,
LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,
RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,Z
W

弁理士 稲葉 良幸

(74)代理人 100109346

弁理士 大貫 敏史

(74)代理人 100117189

弁理士 江口 昭彦

(74)代理人 100134120

弁理士 内藤 和彦

(72)発明者 キム, タックフーン

シンガポール共和国, シンガポール 0 6 8 9 1 4 ロビンソン ロード 1 6 0 エスビーエフ セ
ンター 2 3 - 0 2

(72)発明者 ルー, ティモシー

シンガポール共和国, シンガポール 0 6 8 9 1 4 ロビンソン ロード 1 6 0 エスビーエフ セ
ンター 2 3 - 0 2

(72)発明者 ハリソン, スティーブン

シンガポール共和国, シンガポール 0 6 8 9 1 4 ロビンソン ロード 1 6 0 エスビーエフ セ
ンター 2 3 - 0 2

(72)発明者 ブリュウ, クリスティーン テイラー

シンガポール共和国, シンガポール 0 6 8 9 1 4 ロビンソン ロード 1 6 0 エスビーエフ セ
ンター 2 3 - 0 2

(72)発明者 アンダーソン, グレース

シンガポール共和国, シンガポール 0 6 8 9 1 4 ロビンソン ロード 1 6 0 エスビーエフ セ
ンター 2 3 - 0 2

(72)発明者 バロン, シルヴァン

シンガポール共和国, シンガポール 0 6 8 9 1 4 ロビンソン ロード 1 6 0 エスビーエフ セ
ンター 2 3 - 0 2

(72)発明者 ペ, ジェシー

シンガポール共和国, シンガポール 0 6 8 9 1 4 ロビンソン ロード 1 6 0 エスビーエフ セ
ンター 2 3 - 0 2

(72)発明者 ヨスト, ショーン

シンガポール共和国, シンガポール 0 6 8 9 1 4 ロビンソン ロード 1 6 0 エスビーエフ セ
ンター 2 3 - 0 2

(72)発明者 パーセル, オリバー

シンガポール共和国, シンガポール 0 6 8 9 1 4 ロビンソン ロード 1 6 0 エスビーエフ セ
ンター 2 3 - 0 2

(72)発明者 チャン, シッティング

シンガポール共和国, シンガポール 0 6 8 9 1 4 ロビンソン ロード 1 6 0 エスビーエフ セ
ンター 2 3 - 0 2

(72)発明者 クライン, トニ

Fターム (参考) 4C084 AA13 AA17 NA14 ZB261 ZB262
4C086 AA01 AA02 BC13 BC17 BC50 BC73 BC82 GA07 GA08 GA10
GA12 MA01 MA04 NA14 ZB26